Aus dem Anatomischen Institut
und dem Institut für Toxikologie und Embryonalpharmakologie
der Freien Universität Berlin

ENTSTEHUNG UND MORPHOLOGISCHE ENTWICKLUNG DER EKTODERMALEN RANDLEISTE DER EXTREMITÄTENANLAGE DER MAUS

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Franziska Sander
Berlin

1984

UNIV.
LIBRARY
CAL.

Aus dem Anatomischen Institut
und dem Institut für Toxikologie und Embryonalpharmakologie
der Freien Universität Berlin

ENTSTEHUNG UND MORPHOLOGISCHE ENTWICKLUNG DER EKTODERMALEN RANDLEISTE DER EXTREMITÄTENANLAGE DER MAUS

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Franziska Sander
Berlin

Referent: Prof. Dr. med. H.-J. Merker

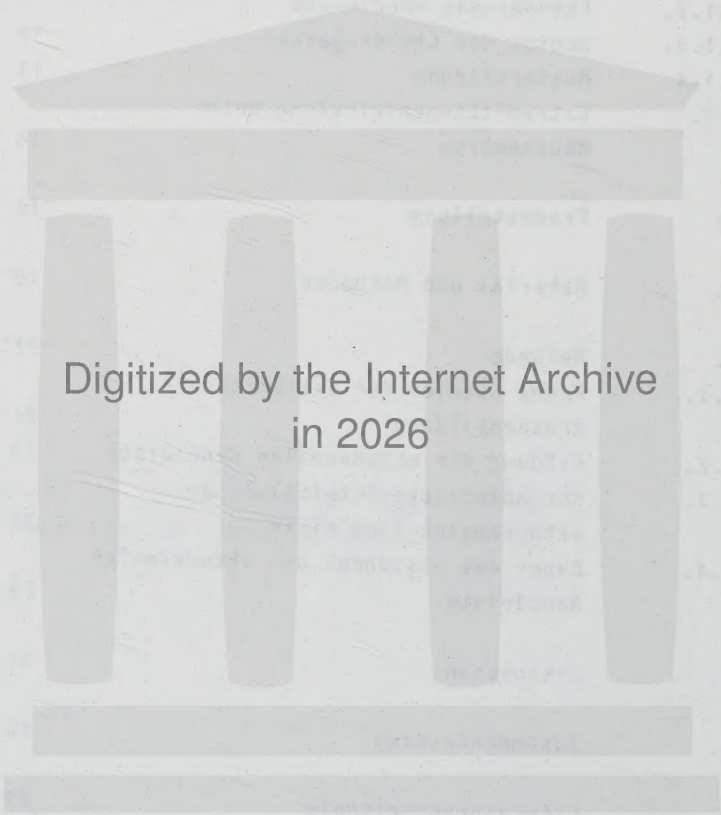
Korreferent: Prof. Dr. med. J. Stolpmann

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 29. August 1984

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Extremitätenentwicklung beim Hühnerembryo	2
1.1.1.	Extremitätenknospenbildung	3
1.1.2.	Ektodermale Randleiste	5
1.1.3.	Beginn der Chondrogenese	12
1.1.4.	Musterbildung	13
1.2.	Extremitätenentwicklung beim Mäuseembryo	14
2.	Fragestellung	16
3.	Material und Methoden	19
4.	Befunde	21
4.1.	Frühe Stadien der Extremitätenknospenbildung	21
4.2.	Bildung der ektodermalen Randleiste	23
4.3.	Morphologische Entwicklung der ektodermalen Randleiste	25
4.4.	Dauer des Bestehens der ektodermalen Randleiste	29
5.	Diskussion	31
6.	Zusammenfassung	40
7.	Literaturverzeichnis	43
8.	Abbildungen	59



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547201_0052

1. Einleitung

Teratologiestudien werden üblicherweise an Säugetieren (Mammalia) durchgeführt.
Selbstverständlich muß eine Obertragung der an Tieren erhobenen Befunde auf den Menschen immer mit größter Zurückhaltung vorgenommen werden.
Keine Untersuchung wird mit absoluter Sicherheit die Frage einer möglichen teratogenen Wirkung einer Substanz beim Menschen beantworten können.
Doch ist zur Reduzierung von Fehlerquellen für eine präzise Durchführung und Auswertung von Untersuchungen zunächst eine genaue Kenntnis der morphologischen Entwicklung der einzelnen Strukturen der zu testenden Tiere Voraussetzung.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Extremitätenentwicklung bei Mäuseembryonen, speziell der morphologischen Entwicklung der ektodermalen Randleiste.
Systematische Untersuchungen über die Extremitätenentwicklung wurden aus arbeitstechnischen und Kostengründen bislang hauptsächlich an Hühnerembryonen durchgeführt.
Doch es gibt auch einige Befunde an Mäuseembryonen (Grüneberg, 1943; Milaire, 1962, 1977; Hinrichsen, 1965; Jurand, 1965; Umansky, 1966; Neubert et al., 1974; Borck, 1977; Fallon und Crosby, 1977; Zimmermann, 1982; Zimmermann et al., 1982).
Obwohl eine weitgehende Analogie des Entwicklungsablaufes angenommen werden kann, ist doch eine genaue zeitliche Zuordnung der Entstehung und Differenzierung für jede zu Testzwecken vorgesehene Tierart notwendig.

Im folgenden wird eine allgemeine Darstellung der Extremitätenentwicklung, die von anderen Autoren an Hühnerembryonen erhoben wurden, gegeben.
Dieser werden die bereits vorliegenden Befunde über die Extremitätenentwicklung bei Mäuseembryonen angeschlossen.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß hier eine Beschränkung auf die frühen Entwicklungsschritte der Extremitätenanlage erfolgt, da die ektodermale Randleiste eine eben diese mitbeeinflussende Struktur da stellt.

1.1. Extremitätenentwicklung beim Hühnerembryo

Die Extremitätenentwicklung beginnt beim Hühnerembryo nach 2 1/2 Tagen Inkubation (Stage 18, nach Hamburger und Hamilton, 1951) mit einem zeitlichen Vorsprung der oberen Extremitätenanlage, die sich im Bereich der lateralen Körperwand ausbildet (Amprino, 1965; Stark und Searls, 1973; Saunders, 1977).
Die Theorie, daß die Extremitätenknospen im Bereich einer totipotenten Wolffschen Leiste entstehen, wurde verworfen zugunsten der Annahme, daß es sich vielmehr um ein isoliertes umschriebenes Extremitätenfeld handelt (Stephens, 1982).
Zum Zeitpunkt der Extremitätenknospenbildung besteht die laterale Körperwand aus einem 2-schichtigen Epithel ektodermaler Herkunft mit darunterliegendem Mesenchym mesodermaler Herkunft (Thorogood und Hinschliffe, 1976; Saunders, 1977). Diese mesodermalen Zellen, die zunächst

nahe des Primitivstreifens lokalisiert waren, sind frühzeitig determiniert und durch Zellwanderung zur lateralen Körperwand gelangt (Rosenquist, 1971).

Die innere Begrenzung stellt die 1-schichtige Somatopleura dar.
In diesem Bereich bilden sich die Extremitätenknospen aus, die in der cranio-caudalen Achse angelegt sind (Amprino, 1965; Saunders, 1977).

1.1.1. Extremitätenknospenbildung

Zu Beginn der Extremitätenknospenbildung kommt es zu einer Vermehrung von prädeterminierten mesodermalen Zellen der Somatopleura (Zwilling, 1961; Saunders, 1977).

Auf eine sehr frühzeitige Determinierung weisen Transplantationsexperimente hin, bei denen undifferenzierte mesenchymale Extremitätenzellen, unter das Flankenepithel übertragen, zur Ausbildung einer Extremitätenknospe führten (Reuss und Saunders, 1965; Saunders und Reuss, 1974). Ferner zeigt dieses Experiment, daß das prädeterminierte Mesoderm auch eine Induktionsfähigkeit auf das darüberliegende Flankenepithel besitzt, sofern an der Transplantationsstelle eine Epithelläsion verblieb, die eine Epithelregeneration notwendig machte.

Es ist anzunehmen, daß neben der frühzeitigen Determinierung eine spezifische Umgebungsstruktur (Matrix) für

die Differenzierung eine Rolle spielt, da die Transplantation von Flankenzellen in die junge Extremitätenknospe diese zu extremitätenspezifischen Zellen differenzieren läßt (Dhouailly und Kieny, 1972; Stephens et al., 1980).

Im weiteren Verlauf der Extremitätenknospenbildung induzieren die mesodermalen Zellen nach Beginn ihrer Proliferation das darüberliegende Epithel ebenfalls zur Proliferation; die Epithelhülle zieht nach distal (Amprino und Camosso, 1958; Amprino, 1965). Weiterhin induzieren die mesodermalen Zellen die Bildung der ektodermalen Randleiste durch Proliferation der Epithelzellen.
Die Induktion zur Extremitätenknospenbildung geht also zunächst vom Mesoderm aus.
Daß das Mesoderm und nicht die ektodermale Randleiste das Auswachsen der Extremitätenknospe initiiert, zeigen auch Experimente mit "limbless" Mutanten, die fähig waren, Extremitätenknospen auszubilden (Fallon et al., 1983). Allerdings läßt sich bei dieser Mutante das darüberliegende Ektoderm nicht zur Bildung einer AER stimulieren. Im weiteren Verlauf degenerieren die Mesodermzellen (Stage 18-19), weil der induktive Einfluß der AER fehlt. Extremitäten bilden sich nicht aus.

Transplantationsexperimente sprechen dafür, daß in der weiteren Entwicklung das Ektoderm zusätzlich induktive Einflüsse ausübt. Wurden Ektodermhüllen mit dissoziierten Mesodermzellen versehen und retransplantiert, so bildeten sich in der Mehrzahl der Fälle normale Extremitäten aus (Zwilling, 156a, 1964). Die Transplantation von Ektoderm mit Mesoderm auf Extremitätenknospen führte zur Ausbildung von zusätzlichen Skelettanteilen. Dies war

nicht der Fall bei Kontrolltransplantaten ohne Ektoderm (Amprino, 1977).

Der induktive Einfluß des Ektoderms ist nicht spezies-spezifisch. Hühnerembryonenektoderm war in der Lage, Mesoderm von Mäuseembryonen zur Knorpelbildung zu stimulieren, wobei das typische Skelett der Mäuseextremität gebildet wurde (Cairns, 1965). Das Experiment weist auch darauf hin, daß das Mesoderm spezies-spezifische Potenzen hat.
Das Mesoderm determiniert den Extremitätentyp (Zwilling, 1961).

1.1.2. Ektodermale Randleiste

Nach Ausbildung der Extremitätenknospe (die Extremitätenanlage ist zu dieser Zeit geformt wie eine flache Scheibe) induziert das Mesoderm die Bildung der ektodermalen Randleiste ("apical ectodermal ridge", AER). Auch die AER wird durch Proliferation gebildet, eventuell zusätzlich durch Zellwanderung vom seitlichen Rand der Extremitätenknospe.

Sie erscheint als längsverlaufende, leistenartige Epithelverdickung und ist postaxial stärker ausgeprägt als präaxial (Saunders, 1948; Zwilling, 1965).

Die AER wird beschrieben als eine 4-5-schichtige Epithelzellanordnung (Ede et al., 1974), wobei jedoch offenge-

lassen werden muß, ob sie tatsächlich mehrschichtig oder vielmehr mehrreihig ausgebildet ist.

Beim Hühnerembryo nimmt die AER Stage 25 eine "nipple-shaped" Konfiguration an, die sich ab Stage 28 wieder abflacht (Thomasek et al., 1982).

Die AER ist für eine gewisse Entwicklungszeit regenerationsfähig. Dies zeigen Experimente, bei denen die AER entfernt wurde; die Regeneration erfolgte jedoch nur in Kontakt mit Extremitätenmesoderm. Die AER-Entfernung hatte darüberhinaus eine anfängliche Wachstumsverzögerung der Extremität zur Folge (Janners und Searls, 1971; Searls und Zwilling, 1964).

Experimente, bei denen eine weitere AER auf die Spitze einer Extremitätenknospe implantiert wurde und dies zur Ausbildung zusätzlicher distaler Extremitätenanteile führte, beweisen eine induzierende Wirkung der AER (Zwilling, 1956b).

Weitere Transplantationsexperimente unterstreichen den Einfluß der AER auf die Ausbildung der Extremität im distalen Bereich. Wurde die AER um 180 Grad gedreht und somit der stärker ausgebildete postaxiale Bereich nach präaxial verlegt, bildete sich ein spiegelbildlich verdoppeltes Extremitätenskelett (Saunders et al., 1957, 1958). Ein Entfernen von Teilen der AER führte zu distalen Fehlbildungen, die den fehlenden AER-Teilen entsprachen (Rowe und Fallon, 1981, 1982).

Untersuchungen an Mutanten weisen ebenfalls auf die Funktion der AER für die Ausbildung der distalen Extremitätenstrukturen hin. Die homocygote "wingless" Mutante besitzt Extremitätenknospen ohne AER (Zwilling, 1949). Bei der polydactylen Mutante "diplopodia" ist im Gegensatz zu normalen Embryonen der präaxiale Teil der AER ebenso stark ausgebildet wie der postaxiale (Goetnick, 1966; Fraser und Abbott, 1971). Die Mutante "eudiplopodia" entwickelt eine zweite AER im dorsalen Epithelbereich. Dies führt zu zusätzlichen distalen dorsalen Extremitätenstrukturen (Goetnick, 1964).

Ein weiterer Befund der Transplantationsexperimente mit der AER war eine gesteigerte Proliferation des subapikalen Mesenchyms (Camosso und Roncalli, 1968; Cooke und Summerbell, 1981). Die AER regt also das darunterliegende Mesenchym zu weiterer Proliferation an. Wird subapikales Mesenchym weitgehend entfernt, so regeneriert es unter dem Einfluß der AER fast immer vollständig (Barasa, 1964).

Darüberhinaus verhindert die AER eine vorzeitige Zelldifferenzierung und Einleitung der Chondrogenese im subapikalen Mesenchym und ermöglicht somit ein weiteres distales Auswachsen der Extremitätenanlage (Newman und Mayne, 1974; Summerbell und Lewis, 1975; Kosher et al., 1979; Kosher und Savage 1980, 1981).
In vivo Untersuchungen ergaben, daß die AER diesen Einfluß auf Mesenchymzellen ausübt, die bis zu 0,4 nm von ihr entfernt sind. Wird der Abstand der Mesenchymzellen zur AER größer, beginnt ihr Differenzierungs- und

Kondensationsprozess (Stark und Searls, 1973).

Die Hemmung der Chondrogenese bewirkt die AER vermutlich durch Sekretion des Glucosaminoglycans Hyaluronsäure. Diese scheint die für die Knorpelbildung notwendige Ausbildung von Zellkontakten zu verhindern (Toole, 1973; Kosher und Savage, 1981).
Entsprechend korreliert eine hohe Hyaluronsäure-Akkumulation mit einem geringen Abstand der Mesenchymzellen von der AER und ihrem undifferenzierten Zustand (Kosher et al., 1981). Einem Abfall der Hyaluronsäurekonzentration steht ein Anstieg des Chondroitinsulfats in der interzellulären Matrix gegenüber.
Eine zusätzliche Rolle scheint das Glycoprotein Fibronectin zu spielen. Mit Immunfluoreszenz wurde eine diffuse Verteilung des Fibronectins im subapikalen undifferenzierten Mesenchym nachgewiesen (Kosher et al., 1982). Fibronectin besitzt eine spezielle Hyaluronsäure-Bindungsstelle (Yamada et al., 1980).
Es ist möglich, daß das an der Zelloberfläche lokalisierte Fibronectin entweder als Hyaluronsäure-Rezeptor dient oder eine andere Interaktion zwischen Fibronectin und Hyaluronsäure daran beteiligt ist, daß die Mesenchymzellen ihren undifferenzierten Zustand behalten (Kosher, 1983).

Der induktive Einfluß der AER ist jedoch zeitlich limitiert. Die Fähigkeit, das subapikale Mesenchym zu weiterer Proliferation anzuregen, erlischt bis zum Stage 29 (Rubin und Saunders, 1972).

Drehungsexperimente mit der AER zeigten eine Verdickung des präaxialen Teiles, sobald er nach postaxial verpflanzt wird. Diese Beobachtung führte zu der Annahme eines die AER beeinflussenden Faktors, des "apical maintenance factors" (MF) (Zwilling, 1956, 1961, 1972). Dieser soll im postaxialen Mesenchym lokalisiert sein. Seine Konzentration soll dabei von posterior nach anterior sowie von distal nach proximal abnehmen. Weitere Experimente mit Einlage eines Millipore-Filters führten zu der Schlußfolgerung, daß es sich bei dem MF um einen diffusiblen Stoff handeln müsse (Saunders und Gasseling, 1963).

Im postaxialen Mesoderm ist ferner die "zone of polarizing activity" (ZPA) lokalisiert (Mac Cabe et al., 1973). Durch Interaktion mit der AER soll sie die Ausbildung distaler Extremitätenstrukturen beeinflussen können (Balcuns et al., 1970). Möglicherweise ist der MF mit dem Faktor der ZPA identisch, da die Wegnahme des posterioren subapikalen Mesenchyms zur Nekrose der AER führt und zum Fehlen der distalen Skelettanteile. Wird die anteriore Hälfte entfernt, zieht dies keinen AER-Untergang und keine Fehlbildung nach sich (Hinchliffe et al., 1981).
Wenn postaxiales Mesoderm dagegen präaxial implantiert wird, resultiert eine präaxiale Verdickung der AER und schließlich eine spiegelbildlich ausgebildete Extremität (Fallon und Crosby, 1957; Saunders und Gasseling, 1968; Wolpert und Hornbruch, 1981).

Die ZPA scheint ebenfalls durch ein diffusibles Morphogen ihre Aktivität auszuüben (Summerbell und Tickle,

1977). Durch Einlegen einer impermeablen Barriere konnte die ZPA-Wirkung geblockt werden (Summerbell, 1979; Kaprio, 1981). Das im postaxialen subapikalen Mesenchym lokalisierte Morphogen hat ein niedriges Molekulargewicht ("low molecular weight" = LMW) (Calandra und Mac Cabe, 1978). Ferner wurde es auch in einer Form mit hohem Molekulargewicht ("high molecular weight" = HMW) nachgewiesen (Mac Cabe und Richardson, 1982). Daraus wurde geschlossen, daß der im postaxialen Mesenchym produzierte LMW-Faktor durch einen in der gesamten Extremitätenanlage verteilten Stoff in den HMF-Faktor übergeführt werden kann und somit einen Wandel von seiner inaktiven in seine aktive Form vollzieht (Mac Cabe et al., 1983).

Allerdings kann die ZPA-Aktivität auch in Bereichen außerhalb der Extremitätenanlage gefunden werden (Saunders, 1977). Wird Mesenchym vom posterioren Bereich der Extremitätenanlage entnommen und subapikal eingepflanzt, entstehen zusätzliche distale Extremitätenstrukturen (Saunders und Gasseling, 1983). Weitere Untersuchungen werden zeigen, ob die Theorie einer "zone of polarising activity" verlassen wird zugunsten eines polarisierenden Morphogens. Dieses wurde in einem weit über die Extremitätenanlage hinausgehenden Bereich beobachtet (Cooke, 1982).

Zur Wirkungsentfaltung des Morphogens ist kein intakter interzellulärer Kontakt notwendig, sogar die Zellcytostruktur kann vor der Einpflanzung durch Zentrifugieren zerstört werden (Saunders, 1972, Lawrence, 1983).

Der Effekt des polarisierenden Morphogens kann nachgeahmt werden durch hohe Dosen Retinsäure, es entstehen Extremitätenverdoppelungen (Tickle et al., 1982; Lawrence, 1983).
Noch bevor die AER verschwindet, beginnt im Mesenchym die Ausbildung von Nekrosezonen (Stage 24). Irreversibel vorprogrammiert sollen sie bereits Stage 22 sein (Hurle und Hinchliffe, 1978).
Es werden "posterior necrotic zones" (PNZ) und "anterior necrotic zones" (ANZ) beschrieben, die der differenzierten Ausformung der distalen Extremitätenanteile dienen sollen. Die Nekrosezonen wurden als besonders ausgeprägt im Interdigitalbereich ("interdigital necrotic zones" = INZ) beschrieben (Saunders und Saunders, 1962; Saunders, 1966; Hinchliffe, 1980).

Kleine Nekrosezonen erscheinen auch in der AER. Die prospektiv nekrotischen Zellen machen degenerative Veränderungen des Cytoplasmas und des Nukleus durch. Vakuolen nehmen autophagisch die degenerativen Zellfragmente auf. Diesem Prozeß schließt sich die Phagocytose durch Makrophagen an, die aus einer Umwandlung benachbarter Mesenchymzellen hervorgegangen sind (Dawd und Hinchliffe, 1971).

Der Zelluntergang ist genetisch determiniert. Daneben zeigten Transplantationsexperimente, bei denen prospektive Nekrosezellen an anderer Lokalisation keinen Zelltod durchmachten, daß als weiterer Faktor zur Auslösung der Zellnekrosen eine bestimmte Umgebungssituation ist (Saunders und Fallon, 1966; Goel, 1983).

1.1.3. Beginn der Chondrogenese

In der weiteren Entwicklung der Extremitätenanlage (Stage 25, sie hat inzwischen eine Paddelform ausgebildet und beginnt eine ventrale Beugung) vollziehen sich Veränderungen in den Bereichen des Mesenchyms, die nicht mehr dem Einfluß der AER unterliegen. Die Zelldifferenzierung und Chondrogenese wird eingeleitet.

Im zunächst lockeren Mesenchym der Extremitätenanlage treten zentrale Verdichtungen auf. Die bis dahin undifferenzierten, organellarmen Zellen (Thorogood und Hinchliffe, 1975), durch weite Interzellularräume voneinander getrennt (Trelstad et al., 1967), zeigen eine Zunahme an Zelldichte und Zellkontakten (Searls et al., 1972; Kelley und Fallon, 1978).

Die Zelldifferenzierung zeigt sich in der Ausbildung entsprechender Zellorganellen (rauhes endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Apparate, Mitochondrien etc.) (Godman und Porter, 1960; Searls et al., 1972).

Dieser Prozeß der Zellkondensation bzw. Blastembildung (zwischen Stage 22 und 25) (Searls et al., 1972; Summerbell und Wolpert, 1972; Summerbell, 1976; Cairns, 1977) schreitet von proximal nach distal fort (Summerbell et al., 1973).

Im Anschluß an die Kondensation wird die Matrix aus knorpelspezifischen Proteoglykanen und Kollagen Typ II syn-

thetisiert und in den Interzellularraum abgegeben. Die Zellen rücken wieder auseinander (Godman und Porter, 1960; Searls et al., 1972).

1.1.4. Musterbildung

Die Musterbildung der Extremitätenanlage wird durch unterschiedliche Strukturen determiniert.

Das Ektoderm reguliert die dorsoventrale Achse (Pautou und Kieny, 1973; Mac Cabe et al., 1974; Pautou, 1977). Experimente mit "inside-out-"-Ektoderm, das mit Mesodermzellen gefüllt retransplantiert wurde, führte zur Ausbildung normaler Extremitäten, deren dorsoventrale Polarität sich jedoch an der ursprünglichen Ektodermseite orientierte (Errick und Saunders, 1974).

Die proximodistale Achse wird durch das Mesoderm kontrolliert. Die AER ist erforderlich für die Realisierung dieser Fähigkeit des Mesoderms (Zwilling, 1961; Rubin und Saunders, 1972).

Die anteroposteriore Achse wird durch die ZPA, bzw. durch den posterioren subapikalen Mesodermbereich reguliert (Wolpert, 1969; Saunders, 1972; Balcuns et al., 1973). Eine impermeable Barriere, postaxial implantiert, ruft entsprechend ihrer genauen Position Fehlbildungen der anteroposterioren Extremitätenachse hervor (Summerbell, 1979).

Vermutlich besteht die Fähigkeit der Musterbildung nur in noch nicht differenzierten Geweben und geht verloren, wenn der Differenzierungsprozeß voranschreitet (Saunders und Gasseling, 1983).

1.2. Extremitätenentwicklung beim Mäuseembryo

Es liegen vergleichsweise nur wenige Untersuchungen über die Extremitätenentwicklung bei Mäuseembryonen vor.
Im folgenden werden die Befunde wiedergegeben, die von denen der an Hühnerembryonen erhobenen abweichen bzw. diese ergänzen. Ferner werden einige exemplarische Arbeiten erwähnt.

Der Beginn der Extremitätenentwicklung wird beschrieben am Tag 10 (wobei der Konzeptionstag als Tag 0 zählt) (Grüneberg, 1943; Neubert et al., 1974; Zimmermann, 1982) in Höhe der Somiten 7-12 mit der Ausbildung der oberen Extremitätenknospe (Jurand, 1965). Sie wird gebildet aus 2-schichtigem Epithel, deren innere Zellen kubisch sind, gefüllt mit undifferenziertem lockeren Mesenchym. Die Mesenchymzellen sind durch weite Interzellularräume voneinander getrennt und zeigen nur wenige Zellkontakte.

In der weiteren Entwicklung zeigt sich im Querschnitt am distalen Rand der Extremitätenknospe die ektodermale Randleiste. Sie erscheint als eine 4-6-schichtige Epithelverdickung und enthält vereinzelte Nekrosen. Maximal

aufgebaut soll sie am Tag 12 und am Tag 13 nicht mehr vorhanden sein (Zimmermann, 1982).

Nach einer Untersuchung von Jurand (1965) soll die AER am Tag 10 vorhanden sein (den Beginn der Extremitätenknospenbildung setzt er nach der o.g. Zeitrechnung für den Tag 8 1/2 an) und erst am Tag 14 verschwinden. Er beschreibt die AER auch als weniger stark ausgebildet im Vergleich zu der des Hühnerembryos.
Eine erhöhte Mitosezahl wurde im Epithel der AER nicht festgestellt, dagegen jedoch eine RNA-Vermehrung in Relation zum ventralen und dorsalen Epithel (Hinrichsen, 1956).

Transplantationsversuche bestätigen das Vorhandensein und die dem Hühnerembryo entsprechende Aktivität der ZPA auch beim Mäuseembryo (Fallon und Crosby, 1977).

Am Tag 11 hat die Extremitätenanlage die Paddelform ausgebildet (Grüneberg, 1943; Jurand, 1965).
Am selben Tag beginnt die Blastembildung, die in analogen Entwicklungsschritten zu der bei den Hühnerembryonen studierten verläuft (Borck, 1977; Zimmermann, 1982; Zimmermann et al., 1982). Am Tag 12 entsteht die Humerus-, Radius- und Ulnaanlage. Am Tag 13 wird die Handanlage sichtbar und der Humerus ist bereits als hyaliner Knorpel gebildet.
Am Tag 14 ist bei Radius und Ulna die Chondrogenese ebensoweit fortgeschritten (Neubert et al., 1974; Borck, 1977; Zimmermann, 1982).

2. Fragestellung

Es wurde in der Einleitung darauf hingewiesen, daß die Untersuchungen über die Extremitätenentwicklung beim Mäuseembryo unvollständig sind.

Die Angaben über den Beginn der Extremitätenknospenbildung differieren um maximal 1 1/2 Tage:

- sie wird beschrieben am Tag 10
  (Grüneberg, 1943; Neubert et al., 1974;
  Zimmermann, 1982)
- am Tag 9 1/2
  (Theiler, 1972)
- am Tag 8 1/2
  (Jurand, 1965)

wobei jeweils der Tag der Konzeption als Tag 0 berechnet wurde.

Ferner sind die Angaben über die Entwicklung der ektodermalen Randleiste ("apical ectodermal ridge" = AER) nicht vollständig.

Zwar wird der Beginn ihres Erscheinens zeitlich übereinstimmend am Tag 10 beobachtet (Jurand, 1965; Zimmermann, 1982), jedoch bedeutet dies, daß bislang offengelassen werden muß, wieviel Zeit nach Beginn der Extremitätenknospenbildung für ihre Konstituierung notwendig ist.
Die Angaben der o.g. Autoren zeigen eine Diskrepanz zwischen wenigen Stunden und 1 1/2 Tagen.

Ebenso wurden die Schritte der morphologischen Entwicklung der AER vom Beginn ihrer Entstehung bis zu ihrer deutlichen Ausprägung und Zelldifferenzierung noch nicht detailliert beschrieben.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich deshalb mit folgenden Untersuchungen:

1. dem Zeitpunkt des Beginns der Extremitätenknospenbildung
2. dem Zeitpunkt des Beginns der Bildung der AER und der Dauer ihres Bestehens
3. der morphologischen Entwicklung der AER.

Die kurze Schwangerschaftsdauer der Mäuse von 18 Tagen führt insbesondere während der Embryonalzeit zu zeitlich eng gedrängten Entwicklungsabläufen.
Aus diesem Grunde sollen zur Zeitangabe im Rahmen dieser Arbeit zunächst vorwiegend Somitenzahlen dienen, da sie eine genauere zeitliche Zuordnung ermöglichen als die Angabe von Tagen.

Allerdings ist diese Zuordnung nur bis zum frühen Tag 11 p.c. von Vorteil, da zu diesem Zeitpunkt die Rückbildung der Somiten im cranialen Bereich beginnt.

Im folgenden soll eine Aufstellung der Tage mit den entsprechenden Somitenzahlen und die Angabe über deren Erscheinen und Verschwinden bei Mäuseembryonen gegeben werden:

Tag 8	1 - 7 Somiten	die ersten Somiten werden sichtbar
Tag 8 1/2	8 - 12 Somiten	
Tag 9	13 - 20 Somiten	
Tag 9 1/2	21 - 29 Somiten	
Tag 10	30 - 34 Somiten	
Tag 10 1/2	35 - 39 Somiten	craniale Somiten beginnen zu verschwinden
Tag 11	40 - 44 Somiten	keine cranialen Somiten sichtbar
Tag 11 1/2	mehr als 45 Somiten	
Tag 12		Somiten sichtbar vom mittleren Rumpf- bis Schwanzbereich
Tag 13		Somiten sichtbar im distalen Schwanzbereich
Tag 14		Somiten sichtbar im distalen Schwanzbereich
Tag 15		keine Somiten sichtbar

(nach Theiler, 1972)

Die Formation eines Somitenpaares erfordert 1-2 Stunden bei Mäuseembryonen, so läßt sich leicht bei Angabe der Somitenzahl ein relativ genaues Alter des Embryos bestimmen.

3. Material und Methoden

Mäuseembryonen (Stamm NMRI) wurden am Tag 9, 9 1/2, 10, 10 1/2, 11 11 1/2, 12, 13 und 14 p.c. den Uteri entnommen. Der Tag der Konzeption zählte als Tag 0.
Sofort nach der Entnahme der Embryonen wurde die Anzahl der Somiten bestimmt.

Für die Lichtmikroskopie und Elektronenmikroskopie wurden die Embryonen in 1,5 % Glutaraldehyd mit 1 % Tanninsäure (Fa. Merck, Darmstadt) in 0,1 mol Phosphatpuffer (pH 7,2) bzw. alternativ in Karnovsky-Lösung aus 4 % Glutaraldehyd, 7 mg Calciumclorid/ml in 0,06 mol Cacodylatpuffer, 2 % Paraformaldehyd fixiert.
Nach einer Spülung in Pufferlösung wurden sie nochmals 1 Stunde nachfixiert in 1 % Osmiumtetroxid in 0,1 mol Phosphatpuffer.
Anschließend wurden sie in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und in Mikropal (Fa. Ferak, Berlin) eingebettet.

Für die Lichtmikroskopie wurden mit einem Reichert-Mikrotom Semi-Dünnschnitte angefertigt.
Diese wurden mit Azan bzw. Giemsa (bei 60^{o} ca 1/2 min lang) gefärbt und in Eukitt eingebettet.
Die Fotographien wurden an einem Fotomikroskop von Zeiss erstellt.

Für die Elektronenmikroskopie wurden die Dünnschnitte mit einem Reichert-Ultrotom hergestellt.
Die Kontrastierung erfolgte mit Uranylacetat in destiliertem Wasser und Bleinitrat.

Die Aufnahmen wurden an einem Siemens EM 101-Elektronenmikroskop angefertigt.

Für die Rasterelektronenmikroskopie wurden die Embryonen fixiert in Karnovsky-Lösung.
Dann wurden sie gespült in 0,1 mol Cacodylatpuffer, nachfixiert in Osmiumtetroxid und nochmals in Cacodylatpuffer gespült.
Anschließend wurden sie in aufsteigender Alkoholreihe entwässert.
Die Trocknung erfolgte nach der "critical-point"-Methode mit Kohlendioxyd in einer Polaron E 3000-Trocknungsapparatur.
Danach wurden die Präparate mit einem Leit-C-Kleber auf Aluminium-Probetischen befestigt.
In einer Polaron SEM Coating-Unit E 5100 wurden sie in verdünnter Argon-Atmosphäre mit Gold-Palladium (ca. 30 nm dick) besputtert.
Die Fotographien wurden an einem ISI-1000 Rasterelektronenmikroskop hergestellt.

4. Befunde

4.1. Frühe Stadien der Extremitätenknospenbildung

Die Extremitätenknospenbildung beginnt bei Mäuseembryonen unseres Stammes (NMRI) mit der Ausbildung der oberen Extremitätenanlage am frühen Tag 9 (Tag der Konzeption = Tag 0) bei einer Somitenzahl von 15-17.
Sie erscheint in Höhe der Somiten 7-12 als eine flache Vorwölbung im Bereich der lateralen Körperwand.

Während der Entnahme der Embryonen waren bei 2 Mäuseembryonen bereits am Tag 8 1/2 bei einer Somitenzahl von 12-13 obere Extremitätenknospen zu erkennen.
Aufgrund der Mehrzahl anderer Beobachtungen scheint uns dies jedoch eine Abweichung vom Normalfall zu sein.

Lichtmikroskopische Befunde

Bei einer Somitenzahl von 15-17 zeigt sich die Extremitätenknospe als eine flache Vorwölbung (Abb. 1). Sie ist deutlich gegenüber den diskreten Vorwölbungen der Somiten abzugrenzen. Nach außen ist die Extremitätenknospe begrenzt durch 1-schichtiges kubisches Epithel (Abb. 2). Darunter liegt undifferenziertes lockeres Mesenchym.

Bei einer Somitenzahl von 18-20 (Abb. 3) ist die Anlage bereits deutlicher ausgeprägt. Das Epithel zeigt Übergänge zu 2-schichtigem Epithel.

Im weiteren Verlauf (Somitenzahl 21-23) nimmt die Ex-

tremitätenknospe die Form einer etwa halbrunden Scheibe an. Das Epithel scheint an manchen Stellen mehrschichtig. Das Mesenchym ist noch undifferenziert. Es erscheint jedoch im Gegensatz zu früheren Stadien aufgelockerter. Sowohl im Epithel als auch im Mesenchym finden sich viele Mitosen (Abb. 4).

Rasterelektronenmikroskopische Befunde

Rasterelektronenmikroskopisch läßt sich dieser im Verlauf der Embryonenentnahme und Somitenzählung erhobene Befund, der sich lichtmikroskopisch nachweisen läßt, nicht darstellen.

Erst bei einer höheren Somitenzahl am Tag 9 (18-20 Somiten) sind mit dem von uns angewendeten Verfahren rasterelektronenmikroskopisch die Extremitätenknospen als diskrete Vorwölbungen zu erkennen (Abb. 5, 6).

Elektronenmikroskopische Befunde

Die Extremitätenknospen zeigen bei einer Somitenzahl des Embryos von 15-17 ein 1-schichtiges Epithel (Abb. 7). Der Zellkern ist rundoval, häufig findet sich ein Nukleolus. Sonst sind die Epithelzellen organellarm, neben Ribosomen sind vereinzelt Mitochondrien vorhanden. Die Epitheloberfläche hat vereinzelt Microvilli ausgebildet. Die Basalmembran ist kontinuierlich und läßt sich durch die Fixierung mit Tannin deutlich darstellen. Unterhalb der Basalmembran schließt sich das Mesenchym an. Der Abstand der Mesenchymzellen von der Ba-

salmembran ist dabei unterschiedlich groß. Manche Zellen liegen direkt an der Basalmembran, andere in mehr oder weniger großer Entfernung.

4.2. Bildung der ektodermalen Randleiste

Die ektodermale Randleiste ("apical ectodermal ridge", AER) wird in ihren frühen Stadien erstmals sichtbar bei einer Somitenzahl des Mäuseembryos von 26-28 (dies entspricht dem Tag 9 1/2 bzw. dem frühen Tag 10).

Sie erscheint also etwa 24 Stunden nach Beginn der Extremitätenknospenbildung.

Lichtmikroskopische Befunde

Bei einer Somitenzahl von 26-28 hat sich die ektodermale Randleiste am distalen Rand der Extremitätenanlage herausgebildet. Sie ist an deren Spitze am stärksten ausgeprägt. Zu beiden Seiten läuft die Epithelverdickung, sich kontinuierlich verschmälernd, aus (Abb. 8). Die AER dehnt sich weiter nach postaxial als nach präaxial aus. In ihrem prominentesten Teil besteht sie aus 6- bis 7-schichtigem Epithel (Abb. 9). Es finden sich häufig Mitosen, besonders zahlreich auf der Spitze der Anlage. In ihrem Zentrum liegen die Epithelzellen dicht; die Interzellularräume sind schmal. Im Gegensatz dazu weist das Epithel in den peripheren Bereichen weite interzelluläre Räume auf. Vereinzelt finden sich intrazellulär sehr dichte Strukturen, die auf phagozytiertes Material hinweisen.

Das subapikale Mesenchym ist nach wie vor undifferenziert, d.h. die Mesenchymzellen sind durch weite Interzellularräume getrennt, sie haben über lange Zellfortsätze miteinander Kontakt, ferner besitzen sie überwiegend große Zellkerne.

Zu einem etwas späteren Zeitpunkt, bei einer Somitenzahl von 32-33 (Tag 10), ist auf dem Längsschnitt kein wesentlicher Unterschied gegenüber dem Stadium Somitenzahl 26-28 zu erkennen. Auf dem Querschnitt jedoch zeigt sich bereits eine beginnende "nipple-shaped" Ausbildung der AER (Abb. 10).
Während das dorsale Ektoderm der Extremitätenanlage nahezu kontinuierlich in das Epithel der AER übergeht, ist das ventrale Ektoderm durch eine deutliche Inzision von der AER abgesetzt. Auf der Abb. 10 ist der ventrale Rand der Extremitätenanlage direkt unterhalb der AER zu erkennen. Daraus zeigt sich, daß sich die AER am ventralen Rand der Extremitätenanlage herausgebildet hat.

Rasterelektronenmikroskopische Befunde

Die Extremitätenanlage (Somitenzahl 26-30) der oberen Extremität hat die Form eines Paddels ausgebildet (Abb. 11). Am distalen Rand der Anlage wird deutlich eine epitheliale Verdickung sichtbar (Abb. 12, 13), die die ektodermale Randleiste darstellt. Zu diesem Zeitpunkt ist die untere Extremitätenanlage deutlich sichtbar (Abb. 11). Sie ist kleiner als die obere Extremitätenanlage und weist noch keine AER auf (Abb. 14).

Elektronenmikroskopische Befunde

Elektronenmikroskopisch ist in diesem Stadium (Somitenzahl 26-28 und 32-33) die AER in ihrem mehrschichtigen Aufbau deutlich zu erkennen (Abb. 15). Die Zellen sind plump, die interzellulären Räume eng. Der Zellkern ist rundoval, ein bis zwei Nukleoli sind häufig zu erkennen. Im Gegensatz zum vorher beschriebenen Epithel sind die Zellen nun organellreicher. Sie enthalten viele Mitochondrien, Ribosomen und vereinzelt kurze Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums. Manche Zellen enthalten phagozytiertes Material.

Zum Mesenchym ist das Epithel von einer Basalmembran abgegrenzt (Abb. 16). Hier hat die Basalmembran einen unregelmäßigen Verlauf. An einigen Stellen dringt der basale Anteil der Epithelzellen zusammen mit der Basalmembran zahnartig in das Mesenchym vor (Abb. 17). Es ist darauf hinzuweisen, daß die Basalmembran auch an diesen Stellen kontinuierlich ist.
Im apikalen Bereich der AER zeigen die Epithelzellen nun viele Microvilli. Daneben finden sich endozytotische oder exozytotische Einschnürungen und Vesikel.
Es sind apikal gehäuft Microtubuli zu erkennen (Abb. 18).
Zellkontakte haben sich zwischen den Zellen der frühen AER noch nicht ausgebildet.

4.3. Morphologische Entwicklung der ektodermalen Randleiste

Vom Beginn ihres Erscheinens (früher Tag 10) bis zum

maximalen Aufbau der ektodermalen Randleiste und der Differenzierung ihrer Zellen sind 24-30 Stunden notwendig (Tag 11 bis 11 1/2).

Lichtmikroskopische Befunde

Am Tag 10 1/2 bzw. am frühen Tag 11 erscheint die ektodermale Randleiste im Längsschnitt als 6- bis 7-schichtige Epithelverdickung, die nach prä- und postaxial schmaler werdend ausläuft (Abb. 19). Die oberen Epithelzellen sind abgeflacht, in den unteren Bereichen erscheint das Epithel kubisch. Die interzellulären Zwischenräume sind im Gegensatz zum lateralen Epithel eng. Das Mesenchym unter der AER hat einen lockeren Aufbau. Es finden sich regelmäßig Mitosen in diesem Bereich. Darüberhinaus ist nun auch der venöse Randsinus, in dem kernhaltige Erythrocyten zu finden sind, voll ausgebildet.
Im Querschnitt durch die Extremitätenanlage wird in diesem Stadium die typische "nipple-shaped" Konfiguration der AER sichtbar (Abb. 20).

Maximal ausgebildet ist die AER am Tag 11 1/2 (Abb. 21). Die Zahl der Mitosen ist jedoch im Vergleich zu den frühen Stadien deutlich reduziert. Die Vorwölbung erscheint sehr prominent; es kommt auch zu einer Einsenkung der AER in ihrem basalen Bereich in das Mesenchym.

Rasterelektronenmikroskopische Befunde

Am Tag 11 hat die obere und die untere Extremitätenanlage die Paddelform angenommen (Abb. 22). Es zeigt sich wiederum der Wachstumsvorsprung der oberen Anlagen.
Zu diesem Zeitpunkt weist die obere (Abb. 23, 24) und die untere Extremitätenanlage (Abb. 25) eine deutlich ausgebildete ektodermale Randleiste auf. Sie ist am prominentesten auf der Spitze der Anlage (Abb. 23, 25) und leicht nach ventral verschoben (Abb. 22).

Am Tag 11 1/2 zeigen die Extremitäten neben einer Größenzunahme weiterhin die Paddelform (Abb. 26).
Rasterelektronenmikroskopisch erscheint am distalen Rand der oberen (Abb. 27) und der unteren Anlage (Abb. 28) die AER nahezu unverändert ausgeprägt.

Elektronenmikroskopische Befunde

Die Differenzierung der Zellen der ektodermalen Randleiste zeigt sich in einer weiteren Zunahme der Zellorganellen.

Am Tag 10 ist die AER aus mehrschichtigem Epithel mit schmalen interzellulären Zwischenräumen aufgebaut. Die Zellen enthalten rundovale Kerne mit 1 oder mehreren Nukleoli.
Phagolysosomen treten im Vergleich zu den frühen Stadien der AER häufiger auf (Abb. 29). Neben organellarmen Epithelzellen (Abb. 30) finden sich auch Epithelzellen mit einer deutlichen Zunahme an Zellorganellen (Abb. 31). Neben vielen Mitochondrien und einigen Profilen des

rauhen endoplasmatischen Retikulums sind nun auch Golgi-Apparate und "coated vesicles" zu erkennen.
Zellkontakte haben sich ausgebildet in Form von Desmosomen (Abb. 32). Cytoplasmatische Filamente inserieren in diesen Bereichen an der inneren Oberfläche der Zellmembran. Außerdem sind im Vergleich zu den Desmosomen Zellkontakte vom Typ der "gap junctions" in größerer Zahl zu finden (Abb. 33).

Das nicht zu der ektodermalen Randleiste gehörende Extremitätenknospenepithel nimmt an diesem Differenzierungsprozeß nicht teil.
Es ist aufgebaut aus 2-schichtigem Epithel (Abb. 34). Im Vergleich zur AER weist es weitere Interzellularräume auf. Der Zellkern ist rundoval und enthält 1 bis mehrere Nukleoli. Die Zellen des Extremitätenknospenepithels enthalten einige Zellorganellen wie Mitochondrien, Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums, Microtubuli, Golgi-Apparate und "coated vesicles" (Abb. 35, 36). Die Menge dieser Zellorganellen und die Anzahl der Zellkontakte ist im Vergleich zu den Zellen der ektodermalen Randleiste deutlich geringer.

Am Tag 11 sind die Zellen der AER noch dichter zusammengerückt. Die interzellulären Zwischenräume sind sehr eng (Abb. 37). Wie am Tag 10 ist intrazelluläres phagocytiertes Material zu erkennen.
Die Anzahl der Zellorganellen (Mitochondrien, rauhes endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Apparate, Vesikel) hat weiterhin zugenommen (Abb. 38). Es zeigen sich wiederum Zellkontakte vom Typ der "gap junctions" (Abb. 39) und Desmosomen (Abb. 40).

4.4. Dauer des Bestehens der ektodermalen Randleiste

Wie wir weiter oben beschrieben, entsteht die AER am Tag 9 1/2 bzw. dem frühen Tag 10. Sie ist am Tag 10 und 11 am distalen Rand der Extremitätenanlage als eine zusammenhängende Epithelverdickung sichtbar. Weiterhin ist sie an den Tagen 12 und 13 vorhanden, doch nun nicht mehr zusammenhängend, sondern jeweils separat an den distalen Rändern der jetzt andeutungsweise sichtbaren Spitzen der fünf Fingeranlagen.
Am Tag 14 ist die AER verschwunden.
An diesem Tag ist die äußere Formung der Extremität abgeschlossen. Die einzelnen Finger haben sich vollständig ausgebildet, während sie am Tag 13 zwar schon erkennbar werden, jedoch noch wie durch Schwimmhäute miteinander verbunden sind.

Lichtmikroskopische Befunde

Am Tag 12 erscheint die AER in den distalen Bereichen der Extremitätenanlage. Ihr Aufbau ist im Prinzip ähnlich dem am Tag 10 und 11: sie wird gebildet aus mehrschichtigem Epithel, das auf der Spitze der Anlage am prominentesten ausgebildet ist, die interzellulären Zwischenräume sind sehr schmal. Im Gegensatz zum Tag 11 hat die AER am Tag 12 ihre typische "nipple-shaped" Konfiguration verloren. Mitosen werden in den AER-Zellen nur noch selten sichtbar (Abb. 41).

Am Tag 13 entspricht der Befund dem am Tag 12 (Abb. 42). Am Tag 14 ist an der Extremitätenanlage keine AER mehr zu erkennen. Es zeigen sich lediglich in den distalen ventralen Bereichen noch Abschnitte mit 3- bis 4-schichtigem Epithel, während ansonsten 2-schichtiges Epithel die äußere Begrenzung der Extremitätenanlage darstellt (Abb. 43).

5. Diskussion

Nach den hier vorliegenden Befunden beginnt die Bildung der oberen Extremitätenknospe beim Mäuseembryo am frühen Tag 9, wobei der Tag der Konzeption als Tag 0 zählt. Das entspricht einer Somitenzahl von 15-17. Durch die Angabe des Embryonenalters zusammen mit der Zahl der Somiten ist eine genauere Festlegung des Entwicklungsbeginns der Extremitätenknospe möglich. Die entsprechenden Angaben anderer Autoren weichen allerdings davon ab. Jurand (1965) beschreibt den Entwicklungsbeginn am Tag 8 1/2, Theiler (1972) am Tag 9 1/2 und Grüneberg (1943) und Zimmermann (1982) am Tag 10. Die unterschiedlichen Angaben in der Literatur können bedingt sein durch Speziesunterschiede, Unterschiede in den Haltungsbedingungen der Tiere, in einer ungenauen Festlegung des Konzeptionstermins oder in der Beschreibung einer bereits älteren Extremitätenknospe.

In ihren frühen Stadien wird die Extremitätenknospe von einem 1-schichtigen kubischen Epithel umgeben. Das in der Knospe befindliche Mesenchym ist noch völlig undifferenziert. Der hier erhobene morphologische Befund bezüglich des undifferenzierten Mesenchyms entspricht dem anderer Autoren (Saunders, 1948, 1977; Amprino, 1965, 1977; Saunders und Reuss, 1974). Im weiteren Verlauf der Entwicklung (Somitenzahl 18-20 bzw. 21-23) findet sich dann ein 2-schichtiges Epithel als äußere Begrenzung der Extremitätenknospe. Dabei ist die äußere Schicht als das Periderm anzusehen mit darunterliegendem kubischen Epithel. Den gleichen Befund über den

Aufbau des Epithels hatte auch Mac Loughlin (1968) an Hühnerembryonen erhoben. Jedoch wurde im Gegensatz zu unseren Beobachtungen bislang das Epithel in den frühen Stadien sowohl bei Mäuseembryonen (Grünerberg, 1943; Jurand, 1965; Neubert et al., 1972; Zimmermann, 1982) als auch bei Hühnerembryonen (Amprino, 1965; Thorogood und Hinchliffe, 1976; Saunders, 1977) als von Anfang an 2-schichtig betrachtet. Lediglich O'Rahilly und Gardner (1975) gaben in ihrer Arbeit über die Extremitätenentwicklung beim menschlichen Embryo an, daß die junge Extremitätenknospe zunächst 1-schichtiges Epithel zeigt.

Obwohl licht- und transmissionselektronenmikroskopisch am Tag 9 deutlich die Anlage der sich bildenden Extremitäten zu erkennen war, ließen sich rasterelektronenmikroskopisch mit dem von uns verwendeten Verfahren die ganz frühen Extremitätenknospen nicht darstellen. Durch das verwendete Verfahren der Präparatherstellung mit Karnovsky- und Osmiumtetroxid-Fixierung und "critical-point" Trocknung wurden die Mäuseembryonen einer Behandlung unterzogen, durch die sich ihr Volumen verringerte. Bei Osmium-fixierten Präparaten kommt es nach der Entwässerung mit Alkohol zu einem Volumenverlust von 23 Prozent (Bahr et al., 1957). So ist es möglich, daß die anfänglich diskreten Vorwölbungen der Extremitätenanlage durch den Schrumpfungsprozeß nicht mehr sichtbar werden.

Die Befunde zeigen, daß die ektodermale Randleiste nicht von Anfang an vorhanden ist. Erst bilden sich die Extre-

mitätenknospen heraus, 24 Stunden später wird dann die AER sichtbar. Die ektodermale Randleiste entsteht bei Mäuseembryonen damit am frühen Tag 10 bei einer Somitenzahl von 26-28. Trotz der unterschiedlichen Angaben der Autoren (Jurand, 1965; Zimmermann, 1982) über den Zeitpunkt der Extremitätenknospenbildung stimmen ihre Befunde hinsichtlich des Zeitpunktes der Randleistenbildung mit unseren überein.

Nach der Bildung der ektodermalen Randleiste werden in ihrem zentralen Bereich Mitosen besonders zahlreich sichtbar. Dort bildet sich durch weitere Proliferation eine zunehmende Epithelverdickung heraus, bis die AER am Tag 11 bis 11 1/2 ihre typische "nipple-shaped" Konfiguration angenommen hat. Weiterhin treten im subapikalen Mesenchym gehäuft Mitosen auf. Dieser Befund unterstützt die Untersuchungen von Amprino und Camosso (1958), wonach das Mesenchym in den distalen Bereichen der Extremitätenanlage direkt subapikal durch Proliferation gebildet wird. Jedoch scheinen während des Auswachsens der Extremitätenanlage neben der Zellproliferation auch die Zellmigration eine Rolle zu spielen. Darauf deuten u.a. Untersuchungen mit einem Computer-Simulations-Verfahren hin (Ede und Law, 1969).

Das Auswachsen der Extremitätenanlage wird in der Literatur auch als ein Gleiten des Ektoderms auf dem Mesoderm nach distal beschrieben (Amprino und Camosso, 1958; Amprino, 1965). Amprino (1977) nahm an, daß die distale Bewegung des Ektoderms größer ist, als die des Mesoderms. Auf diese Weise würde ein Raum unter der AER

entstehen, der sich mit Mesodermzellen füllt. Nach unseren lichtmikroskopischen Befunden ist während des Auswachsens der Extremitätenanlage kein subapikaler Raum sichtbar geworden. Die gesamte "ektodermale Kappe" war gefüllt mit lockerem undifferenzierten Mesenchym.

Unsere Beobachtung, daß die AER erstmals bei der weiter ausgebildeten Extremitätenknospe sichtbar wird, steht im Einklang mit funktionellen Untersuchungen an Hühnerembryonen, die die Interaktion während der Extremitätenentwicklung zwischen Mesenchym und Ektoderm behandeln. Die Bildung der Extremitätenknospe beginnt mit einer Proliferation des Mesenchyms. Das Mesenchym induziert dann die Ektodermzellen zur Proliferation und Ausbildung der AER (Amprino und Camosso, 1958; Amprino, 1965; Cairns, 1977). Transplantationsexperimente mit normalen Hühnerembryonen und "limbless" Mutanten gaben auch Aufschluß darüber, daß die AER nicht erforderlich ist für die Initiierung des Auswachsens der Extremitätenknospe. Hat aber die Bildung der Extremitätenknospe durch Mesenchymproliferation begonnen, wird der induktive Einfluß der AER notwendig, da sonst die subapikalen Mesenchymzellen nekrotisch werden (Fallon et al., 1983). Diese Ektoderm-Mesoderm-Interaktion mit dem rückwirkenden Einfluß der AER-Zellen auf das Mesoderm wurde auch von anderen Autoren beschrieben (Zwilling, 1956a, 1956b, 1961; Saunders et al., 1957; Rubin und Saunders, 1972).

Nach unseren Befunden gibt es auch morphologische Hinweise für eine solche induktive Wirkung der AER. Zunächst zeigt die ektodermale Randleiste in ihren frühen

Stadien zwar noch relativ organellarme Zellen. Doch im Vergleich zu dem sich anschließenden ventralen und dorsalen Epithel enthält sie bereits mehr Mitochondrien und die Ausbildung des rauhen endoplasmatischen Retikulums hat begonnen. Nach weiteren 24-30 Stunden ist die reife AER dann aufgebaut. So ist sie am Tag 11 bis 11 1/2 in ihrer typischen Form und morphologischen Ausgestaltung zu sehen.

Die Epitheloberfläche zeigt im Bereich der AER im Gegensatz zum ventralen und dorsalen Epithel einen sehr dichten Besatz mit Microvilli. Außerdem werden exocytotische oder endocytotische Einschnürungen und Vesikel sichtbar. Dies weist auf eine erhöhte Sekretions- bzw. Resorbtionsleistung dieser Zellen hin (Bloom und Fawcett, 1962; Hay, 1966; Leeson und Leeson, 1970; Toner und Carr, 1971). Die weiterhin von uns beobachtete Zunahme an Mitochondrien deutet darauf hin, daß es sich bei der AER im Gegensatz zum übrigen Epithel um eine stoffwechselaktivere Struktur handelt (Weiss, 1966; Leeson und Leeson, 1970).

Nach unseren Befunden haben sich in der reifen AER die Zellorganellen ausgebildet, die für Protein-sezernierende Zellen typisch sind: das rauhe endoplasmatische Retikulum und Golgi-Apparate. Die Golgi-Apparate sind darüberhinaus an der Synthese verschiedener Glycoproteine und Glucosaminoglycane beteiligt (Weiss, 1966; Leeson und Leeson, 1970). Die im rauhen endoplasmatischen Retikulum synthetisierten und in den Vakuolen der Golgi-Apparate konzentrierten Proteine werden in den Sekretgranula intrazellulär gespeichert und schließlich u.a. in "coated vesicles" durch Exocytose aus den Zellen ausgeschleust

(Toner und Carr, 1971; Palade, 1975). Auch diese "coated vesicles" sind in den Zellen der AER nachweisbar.

In der Literatur finden sich Hinweise dafür, daß die AER verschiedene Morphogene sezerniert, die zur Gruppe der Glucosaminoglykane und Glycoproteine gehören. Es wurde beschrieben, daß die AER neben ihrer induktiven Wirkung, das subapikale Mesenchym zu gesteigerter Proliferation anzuregen, ebenso eine vorzeitige Zelldifferenzierung und Chondrogenese im subapikalen Mesenchym zu verhindern scheint (Newman und Mayne, 1974; Summerbell und Lewis, 1975). Diesen Einfluß übt sie möglicherweise durch die Sekretion von Hyaluronsäure und Fibronectin aus, wobei die Hyaluronsäure im Mesenchym verhindert, daß sich die für die Einleitung der Chondrogenese notwendigen Zellkontakte ausbilden (Toole, 1973; Kosher und Savage, 1981; Kosher et al., 1982).

Abgesehen von der Differenzierung der Zellen der AER mit der Ausbildung entsprechender Zellorganellen zeigen sich nach unseren Befunden in der reifen AER auch zahlreiche Zellkontakte. Auch sie sind Ausdruck einer Spezialisierung der Zellen (Hay, 1966; Toner und Carr, 1971). Nach unseren Beobachtungen handelt es sich bei den Zellkontakten überwiegend um "gap junctions", es haben sich aber auch Desmosomen ausgebildet.

Die Bedeutung der "gap junctions" liegen in der Herstellung der interzellulären Kommunikation. Sie ermöglichen die Passage von Molekülen bis zu einem Molekulargewicht

von 1000 und von Ionen; weiterhin bringt ihre Anwesenheit eine Erniedrigung des elektrischen Widerstandes zwischen den Zellen mit sich (Peracchia, 1980; Loewenstein, 1981). Das zahlreiche Auftreten von "gap junctions" in der indiktiv aktiven AER, nicht jedoch in dem sich anschließenden ventralen und dorsalen Epithel, wurde auch von anderen Autoren beschrieben (Kelley und Fallon, 1976; Fallon und Kelley, 1977). Weitere Untersuchungen von ihnen über die Verteilung der "gap junctions" innerhalb der AER zeigten, daß diese am zahlreichsten zwischen den der Basalmembran anliegenden Zellen ausgebildet sind. Keine Kontakte wurden zwischen den AER-Zellen und dem Periderm gefunden (Kelley und Fallon, 1983).

Durch die Fähigkeit der "gap junctions", sich zu öffnen und zu schließen, können sie den metabolischen und elektrischen Informationsfluß zwischen den Zellen regulieren. In der Literatur finden sich Hinweise, daß die Zellkontakte innerhalb der AER eine zentrale Rolle spielen sollen für die interzelluläre Signalgebung, die für das Verhalten der Mesenchymzellen und für die normale Extremitätenentwicklung erforderlich ist (Summerbell et al., 1973; Kelley und Fallon, 1983).

Die den basalen Epithelzellen der ektodermalen Randleiste anliegende Basalmembran hat einen kontinuierlichen Verlauf wie im Bereich des dorsalen und ventralen Epithels. Unsere Beobachtung einer kontinuierlichen Basalmembran in diesem Bereich bei Mäuseembryonen scheint nicht bei allen Spezies identisch zu sein. Jedenfalls

beschrieb Jurand (1965) bei Hühnerembryonen die Basalmembran unter der AER als diskontinuierlich, bei menschlichen Embryonen hingegen wurde auch ein kontinuierlicher Verlauf angegeben (Kelley, 1973).

Die epitheliale Basalmembran hat vielfältige Funktionen, u.a. die eines Filters. Sie ist durch ihren jeweiligen Aufbau beteiligt an der unterschiedlichen Permeabilität für Moleküle, die zwischen dem Epithel und dem Mesenchym Träger des Informationsflusses sind (Kefalides, 1970; Pierce, 1970). Im Bereich der AER ist vermutlich ihre Funktion bei der Regulation der Proliferation und der Zelldifferenzierung von großer Bedeutung. Auch Hay (1968) wies darauf hin, daß im Rahmen der Ektoderm-Mesoderm-Interaktion die induktive Wirkung zwischen den Geweben nicht nur durch Zellkontakte ermöglicht bzw. reguliert wird, sondern auch durch die Basalmembran. Wie die Basalmembran eine regulative Wirkung erreicht, ob hierbei verschiedene Mechanismen u.a. auch spezifische über Rezeptoren eine Rolle spielen, muß offengelassen werden.

Nachdem sich die reife AER mit der entsprechenden Morphologie ihrer Zellen am Tag 11 bzw. 11 1/2 ausgebildet hat, bleibt nach den vorliegenden Befunden die ektodermale Randleiste an den Tagen 12 und 13 weiterhin in den distalen Bereichen der Extremitätenanlage sichtbar. Erst am Tag 14 ist sie nicht mehr vorhanden. Was den Zeitpunkt ihres Verschwindens betrifft, entspricht dies der Beobachtung Jurands (1965).

Am Tag 14 ist die Extremitätenanlage bei Mäuseembryonen von ihrer äußeren Form her bereits mit den deutlich ausgebildeten distalen Anteilen zu erkennen. Die Bedeutung der AER, durch ihre induktive Wirkung ein distales Auswachsen der Extremitätenanlage zu gewährleisten, ist zu diesem Zeitpunkt hinfällig geworden.

6. Zusammenfassung

Die Extremitätenknospenbildung beginnt beim Mäuseembryo mit der Ausbildung der oberen Anlage am frühen Tag 9 (Tag der Konzeption = Tag 0) bei einer Somitenzahl von 15-17.

Die junge Extremitätenknospe wird zu diesem Zeitpunkt durch ein 1-schichtiges kubisches Epithel nach außen begrenzt. Erst am Tag 9 1/2 bei einer Somitenzahl von 18-20 bzw. 21-23 hat sich ein 2-schichtiges Epithel ausgebildet. Das Mesenchym der Extremitätenanlage ist locker und undifferenziert.

Die ektodermale Randleiste ("apical ectodermal ridge", AER) entsteht am späten Tag 9 bzw. dem frühen Tag 10 bei einer Somitenzahl von 26-28, also etwa 24 Stunden nach Beginn der Extremitätenknospenbildung.
Maximal aufgebaut ist die AER am Tag 11 1/2. Sie ist weiterhin am Tag 12 und 13 vorhanden und am Tag 14 verschwunden.

Im Verlauf der Ausbildung der AER und des Wachstums der Extremitätenanlage werden im zentralen Bereich des Ektoderms und im subapikalen Mesenchym gehäuft Mitosen sichtbar. Sie sind Ausdruck einer gesteigerten Proliferation in diesem Bereich.

Während des Auswachsens der Extremitätenanlage war die "ektodermale Kappe" immer bis an die subapikale Basalmembran heran mit lockerem undifferenzierten Mesenchym

gefüllt. Es ist kein subapikaler Raum sichtbar geworden.

Die Zellen der AER sind nicht von Anfang an differenziert. Die junge AER am späten Tag 9 zeigt noch ein relativ organellarmes Zellbild (Mitochondrien, vereinzelte Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums).

Die reife AER am Tag 11 1/2 besteht im Gegensatz zu dem sich anschließenden ventralen und dorsalen Epithel aus differenzierten Zellen:

Microvilli, exocytotische bzw. endocytotische Einschnürungen und Vesikel deuten auf eine erhöhte Sekretions- bzw. Resorbtionsleistung der AER-Zellen hin.
Die Zunahme an Mitochondrien weist die AER als eine stoffwechselaktive Struktur aus.
Die Ausbildung des rauhen endoplasmatischen Retikulums, der Golgi-Apparate und "coated vesicles" sind Ausdruck einer gesteigerten Protein-, u.a. Glycoprotein-, und Glucosaminoglycansynthese und -sekretion.
Zahlreiche Zellkontakte, insbesondere "gap junctions", sprechen auch für eine Spezialisierung im Sinne einer Kommunikationserleichterung zwischen den Zellen im Bereich der AER.
Die den AER-Zellen anliegende Basalmembran hat bei Mäuseembryonen einen kontinuierlichen Verlauf. Direkte Mesenchymzell- und Epithelzellkontakte treten im Bereich der Extremitätenanlage nicht auf.

Die morphologische Ausgestaltung der AER liefert einen Hinweis für ihre induktive Wirkung über metabolisch aktive molekulare Signale auf das subapikale Mesenchym im Rahmen der Ektoderm-Mesoderm-Interaktion.

7. Literaturverzeichnis

Amprino, R., 1965, Aspects of limb morphogenesis in the chicken, in: Organogenesis, ed. by R.L. De Haan and H. Ursprung, New York, 255-281.

Amprino, R., 1977, Morphogenetic interrelationship between ectoderm and mesoderm in chick embryo limb development, in: Vertebrate limb and somite morphogenesis, ed. by D.A. Ede, J.R. Hinchliffe and M. Balls, Cambridge Univ. Press, 245-255.

Amprino, R. and Camosso, M., 1958, Analisi sperimentale dello sviluppo dell'ala nell'embrione di pollo, Roux' Arch. Entwicklungsmech., 150, 509-541.

Bahr, G.F., Bloom, G. and Friberg, U., 1957, Volume changes of tissues in physiological fluids during fixation in osmium tetroxide or formaldehyde and during subsequent treatment, Exp. Cell Res., 12, 342-355.

Balcuns, A., Gasseling, M.T. and Saunders, J.W. Jr., 1970, Spatio-temporal distribution of a zone that controls antero-posterior polarity in the limb bud of the chick and other bird embryos, Am. Zool., 10, 323.

Barasa, A., 1964, On the regulative capacity of the chick embryo limb bud, Experentia, 20, 433.

Bloom, W. and Fawcett, D.W., 1962, A Textbook of Histology, W.B. Saunders Co., Philadelphia-London, 1-70.

Borck, C., 1977, Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Mäuseembryonen über die Differenzierung des Blastems in den Extremitäten zum embryonalen Vorknorpel, Acta Anat., 97, 423-434.

Cairns, J.M., 1965, Development of grafts from mouse embryo to the wing bud of the chick embryo, Devel. Biol., 12, 36-52.

Cairns, J.M., 1977, Growth of normal and talpid2 chick wing buds. An experimental analysis, in: Vertebrate limb and somite morphogenesis, ed. by D.A. Ede, J.R. Hinchliffe and M. Balls, Cambridge Univ. Press, 123-137.

Calandra, A.J. and Mac Cabe, J.A., 1978, The in vitro maintenance of the limb-bud apical ridge by cell free preparations, Devel. Biol., 62, 258-269.

Camosso, M. and Roncali, L., 1968, Time sequence of the process of ectodermal ridge thickening and of mesodermal cell proliferation during apical outgrowth of the chick embryo wing bud, Acta Embryol. Morph. Exp., 10, 247-263.

Cooke, J., 1982, Vitamin A, limb patterns and the search for the positional code, Nature, 269, 603.

Cooke, J. and Summerbell, D., 1981, Control of growth related to pattern specification in chick wing-bud mesenchyme, J. Embryol. Exp. Morph., 65, 169-185.

Dawd, D.S. and Hinchliffe, J.R., 1971, Cell death in the 'opaque patch' in the central mesenchyme of the developing chick limb: a cytological, cytochemical and electron microscopic analysis, J. Embryol. Exp. Morph., 26, 401.

Dhouailly, D. and Kieny, M., 1972, The capacitiy of the flank somatic mesoderm of early bird embryos to participate in limb development, Dev. Biol., 29, 162-175.

Ede, D.A., Bellairs, R. and Bancroft, M., 1974, A scanning electron microscope study of the early limb bud in normal talpid mutant chick embryos, J. Embryol. Exp. Morp., 31, 761-785.

Errick, J.E. and Saunders, J.W. Jr., 1974, Effects of an "inside-out" limb bud ectoderm on development of the avian limb, Devel. Biol., 41, 338-351.

Fallon, J.F. and Crosby, G.M., 1975, The relationship of the zone of polarizing activity to supernumary limb formation (twinning) in the chick wing bud, Devel. Biol., 43, 24-34.

Fallon, J.F. and Crosby, G.M., 1977, Polarizing zone activity in limb buds of amniotes, in: Vertebrate limb and somite morphogenesis, ed. by D.A. Ede, J.R. Hinchliffe and M. Balls, Cambridge Univ. Press, 55-69.

Fallon, J.F. and Kelley, R. 1977, Ultrastructural analysis of the apical ectodermal ridge during vertebrate limb morphogenesis, II. Gap junctions as distinctive ridge structures common to birds and mammals, J. Embryol. Exp. Morph. 41, 223-232.

Fallon, J.F., Frederick, J.M., Carrington, J.L., Lanser, M.E., Simandl, B.K., 1983, Studies on a limbless mutant in the chick embryo, in: Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 33-43.

Fraser, R.A. and Abbott, U.K., 1971, Studies on limb morphogenesis, V. The expression of eudiplopodia and its experimental modification, J. Exp. Zool., 176, 219-236.

Godman, G.C. and Porter, K.R., 1960, Chondrogenesis, studies with the electron microscope, J. Biophys. Biochem. Cytol., 8, 719-760.

Goel, S.C., 1983, Role of cell death in the morphogenesis of the amniote limb, in: Progr. Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 175-182.

Goetinck, P.F., 1964, Studies on avian limb morphogenesis, II. Experiments with the polydactylous mutant Eudiplodia, Devel. Biol., 10, 71-91.

Goetinck, P.F., 1966, Genetic aspects of scin and limb development, Devel. Biol., 1, 153.

Grüneberg, H., 1943, The development of some externale features in mouse embryos, J. Hered., 34, 88-92.

Hamburger, V., 1939, The development and innervation of transplanted limb primordia of chick embryos, J. Exp. Zool., 80, 347-389.

Hamburger, V. and Hamilton, H., 1951, A series of normal stages in the development of the chick embryo, J. Morph., 88, 49-92.

Hay, E.D., 1966, Epithelium, in: Histology, ed. by R.O. Grepp, Mac Graw-Hill Book Co., 74-98.

Hay, E.D., 1968, Organisation and fine structure of epithelium and mesenchym in the developing chick embryo, in: Epithelial-mesenchymal interactions, ed. by R. Fleischmajer and R.E. Billingham, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 31-55.

Hinchliffe, J.R. and Johnson, D.R., 1980, Limb shaping and cell death, in: The development of the vertebrate limb, Oxford Clarendon Press, 101-106.

Hinchliffe, J.R., Garcia Porrero, J.A. and Gumpelpinot, M., 1981, The role of the zone of polarizing activity in controlling the differentiation of the apical mesenchyme of the chick wing bud. - Histochemical techniques in the analysis of a developmental problem, Histochem. J., 13, 643-658.

Hinrichsen, K., 1965, Die Bedeutung der epithelialen Randleiste für die Extremitätenentwicklung, Z. Anat. Entw. Gesch., 119, 350-364.

Hurle, J. and Hinchliffe, J.R., 1978, Cell death in the posterior necrotic zone (PNZ) of the chick wing bud: a stereoscan and ultrastructural survey of autolysis and cell fragmentation, J. Embryol. Exp. Morph., 43, 126-136.

Janners, M.Y. and Searls, R.L., 1971, Effects of removal of the apical ectodermal ridge on the rate of cell division in the subridge mesenchyme of the embryonic chick wing, Devel. Biol., 24, 465-476.

Jurand, A., 1965, Ultrastructural aspects of early development of the fore-limb buds in the chick and mouse, Proc. Roy. Soc. cond. B., 162, 387-405.

Jurand, A., 1965, Ultrastructural aspects of early development of the fore-limb buds in the chick and mouse, Proc. Roy, Soc. Lond. B., 162, 387-405.

Kaprio, E.A., 1981, Transfilter evidence for a zone of polarizing activity participating in limb morphogenesis, J. Embryol. Exp. Morph., 65, 185-197.

Kefalides, N.A., 1970, Comparative biochemistry of mammalian basement membranes, in: Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix, ed. by E.A. Balazs, Acad. Press, 535-573.

Kelley, R.O., 1973, Fine structure of the apical rim-mesenchyme complex during limb morphogenesis in man, J. Embryol. Exp. Morph., 29, 117-131.

Kelley, R.O. and Fallon, J.F., 1976, Ultrastructural analysis of the apical ectodermal ridge during vertebrate limb morphogenesis, I. The human forelimb with special reference to gap junctions, Devel. Biol., 51, 241-256.

Kelley, R.O. and Fallon, J.F., 1978, Identification and distribution of gap junctions in the mesoderm of developing chick limb buds, J. Embryol. Exp. Morph., 46, 99-110.

Kelley, R.O. and Fallon, J.F., 1983, A freeze-fracture and morphometric analysis of gap junctions of limb bud cells: initial studies on a possible mechanism for morphometric signalling during development, in: Prog. Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 119-130.

Kosher, R.A., 1983, Relationship between aer, extracellular matrix and cyclic AMP in limb development, in: Prog. Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 279-288.

Kosher, R.A. and Savage, M.P., 1980, Studies on the possible role of cyclic AMP in limb morphogenesis and differentiation, J. Embryol. Exp. Morph., 56, 91-105.

Kosher, R.A. and Savage, M.P., 1981, Glycosaminoglycan synthesis by the apical ectodermal ridge of chick limb bud, Nature, 291, 231-233.

Kosher, R.A., Savage, M.P. and Chan, S.C., 1979, In vitro studies on the morphogenesis and differentiation of the mesoderm subjacent to the apical ectodermal ridge of the embryonic chick limb bud, J. Embryol. Exp. Morph., 50, 75-97.

Kosher, R.A., Savage, M.P. and Walker, K.H., 1981, A gradation of hyaluronate accumulation along the proximodistal axis of the embryonic chick limb bud, J. Embryol. Exp. Morph., 63, 85.

Kosher, R.A., Walker, K.H. and Ledger, P.W., 1982, Temporal and spatial distribution of fibronectin during development of the embryonic chick limb bud, Cell differentiation (in press).

Lawrence, S.H., 1983, Polarizing activity of the avian limb examined on a cellular basis, in: Prog. Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 99-108.

Leeson, T.S. and Leeson, C.R., 1970, Histology, W.B. Saunders Co., Philadelphia-London-Toronto, 17-58.

Loewenstein, W.R., 1981, Junctional intercellular communication: the cell-to-cell membrane channel, Physiol. Rev., 61, 829-913.

Mac Cabe, J.A. and Richardson, K., 1982, Partial characterization of a morphogenetic factor in the developing chick limb, J. Embryol. Exp. Morph., 67, 1.

Mac Cabe, J.A., Gasseling, M. and Saunders, J.W., 1973, Spatiotemporal distribution of mechanisms that control outgrowth and antero-posterior polarization of the limb bud in the chick embryo, Mech. Ageing Devel., 2, 1-12.

Mac Cabe, J.A., Errick, J. and Saunders, J.W. Jr., 1974, Ectodermal control of the dorsoventral axis in the leg bud of the chick embryo, Devel. Biol., 39, 69-82.

Mac Cabe, J.A., Leal, K.W. and Leal, C.W., 1983, The control of axial polarity: A: A low molecular weight morphogen affecting the ectodermal ridge, B: Ectodermal control of the dorsoventral axis, in: Prog. Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 237-244.

Mac Loughlin, C.B., 1968, Interaction of epidermis with various types of foreign mesenchyme, in: Epithelial-mesenchymal interactions, ed. by R. Fleischmayer and R.E. Billingham, Baltimore, Williams and Wilkins Co., 244-251.

Milaire, J., 1962, Histochemical aspects of limb morphogenesis in vertebrates, Advanc. Morph., 2, 183-209.

Milaire, J., 1977, Histochemical expression of morphogenetic gradients during limb morphogenesis (with particular reference to mammilian embryos), Birth Defects, 13, 37-67.

Neubert, D., Merker, H.-J. and Tapken, S., 1974, Comparative studies on the prenatal development of mouse extremities in vivo and in organ culture, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 286, 251-270.

Newman, S.A. and Mayne, R., 1974, Axial differences in the progress of chondrogenesis in the embryonic limb bud, J. Cell. Biol., 63, 245.

O'Rahilly, R. and Gardner, E., 1975, The timing and sequence of events in the development of the limbs in the human embryo, Anat. Embryol. 148, 1-23.

Palade, G., 1975, Intracellular aspects of the process of protein synthesis, Science, 189, 347-358.

Pautou, M.P., 1977, Dorso-ventral axis determination of chick limb bud development, in: Vertebrate limb and somite morphogenesis, ed. by D.A. Ede, J.R. Hinchliffe and M. Balls, Cambridge Univ. Press, 257-266.

Pautou, M.P. and Kieny, M., 1973, Interaction ecto-mesodermique dans l'établissement de la polarité dorso-ventrale du pied de l'embryon de poulet, C. r. hebd. Séanc. Sci. Paris, 227, 1225-1228.

Peracchia, C. and Peracchia, L.L., 1980, Gap junction dynamics: reversible effects of divalent cations, J. Cell. Biol., 87, 708-718.

Pierce, G.B., 1970, Epithelial basement membrane: origin, development and role in disease, in: Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix, Vol. I, ed. by E.A. Palazs, Acad. Press. 471-506.

Pollak, R.D. and Fallon, J.F., 1974, Autoradiographic analysis in prospectively necrotic cells of the chick limb bud, I. Protein Synthesis, Expl. Cell. Res., 86, 9-14.

Pollak, R.D. and Fallon, J.F., 1976, Autoradiographic analysis of a macromolecular synthesis in prospectively necrotic cells of the chick limb bud, II. Nucleic acids, Expl. Cell Res., 100, 15-22.

Reuss, C. and Saunders, J.W., 1965, Inductive and axial properties of prospective limb mesoderm in the early chick embryo, An. Zool., 5, 214.

Rosenquist, G.C., 1971, The origin and movement of the limb bud epithelium and mesenchyme in the chick embryo as determined by radioautographic mapping, J. Embryol. Exp. Morph., 25, 85-96.

Rowe, D. and Fallon, J.F., 1981, The effect of removing posterior apical ectodermal ridge of the chick wing and leg on pattern formation, J. Embryol. Exp. Morph., 65, 309-325.

Rowe, D.A. and Fallon, J.F., 1982, The proximodistal determination of skeletal parts in the developing chick leg, Exp. Morph., 68, 1.

Rubin, L. and Saunders, J.W., 1972, Ectodermal-mesodermal interaction in the growth of limb buds in the chick embryo: Constancy and temporal limits of the ectodermal induction, Devel. Biol., 28, 94-112.

Saunders, J.W. Jr., 1948, The proximo-distal sequence of origin of the parts of the chick wing and the role of ectoderm, J. Exp. Zool., 108, 363-403.

Saunders, J.W. Jr., 1966, Death in embryonic systems, Science N.Y., 154, 604-612.

Saunders, J.W., 1972, Developmental control of three-dimensional polarity in the avian limb, Ann. N. Y. Acad. Sci., 193, 29-42.

Saunders, J.W. Jr., 1977, The experimental analysis of chick limb bud development, in: Vertebrate limb and somite morphogenesis, ed. by D.A. Ede, J.R. Hinchliffe and M. Balls, Cambridge Univ. Press, 1-24.

Saunders, J.W. Jr. and Saunders, L.C., 1962, Cellular death in morphogenesis of the avian wing, Dev. Biol., 5, 147-178.

Saunders, J.W. Jr. and Gasseling, M.T., 1963, Transfilter propagation of apical ectoderm maintenance factor in the chick embryo wing bud, Devel. Biol., 7, 64-78.

Saunders, J.W. Jr. and Gasseling, M.T., 1968, Ectodermal-mesenchymal interactions in the origin of limb symmetry, in: Epithelial-mesenchymal interactions, ed. by R. Fleischmayer and R.E. Billingham, Baltimore: Williams and Wilkins Co., 78-98.

Saunders, J.W. and Reuss, C., 1974, Inductive and axial properties of prospective wing bud mesoderm in the chick embryo, Dev. Biol., 38, 41-50

Saunders, J.W. and Gasseling, M.T., 1983, New insights into the problem of pattern regulation in the limb bud of the chick embryo, in: Prog. Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 67-76.

Saunders, J.W., Cairns, J.W. and Gasseling, M.T., 1957, The role of the apical ridge of ectoderm in the differentiation of the morphological structure and inductive specifity of limb parts in the chick, J. Morph., 101, 57-88.

Saunders, J.W. Jr., Gasseling, M.T. and Gfeller, S.M.D., 1958, Interactions of ectoderm and mesoderm in the origin of axial relationship in the wing of the fowl, J. Exp. Zool., 137, 39-74.

Searls, R.L. and Zwilling, E., 1964, Regeneration of the apical ectodermal ridge of the chick embryo limb bud, Devel. Biol., 9, 38-55.

Searls, R.L., Hilfer, S.R. and Mirow, S.M., 1972, An ultrastructural study of early chondrogenesis in the chick wing bud, Devel. Biol., 28, 123-137.

Singer, R.H., 1972, Analysis of limb morphogenesis in a model system, Devel. Biol., 28, 113-137.

Stark, R.J. and Searls, R.L., 1973, A description of chick wing bud development and a model of limb morphogenesis, Devel. Biol., 33, 138-153.

Stephens, T.D., 1982, The Wolffian ridge: history of a misconception, Isis, 73, 254.

Stephens, T.D., 1983, Parameters establishing the location and nature of the tetrapod limb, in: Prog. Clin. Biol. Res., 110A, ed. by J.F. Fallon and A.L. Caplan, Liss Press, 3-12.

Stephens, T.D., Vascan, N.S. and Lash, J.W., 1980, Extracellular matrix synthesis in the chick embryo lateral plate prior to and during limb outgrowth, J. Embryol. Exp. Morph., 59, 71-87.

Summerbell, D., 1976, A descriptive study of the rate of elongation of the skeleton of the developing chick wing, J. Embryol. Exp. Morph., 35, 241-260.

Summerbell, D., 1979, The zone of polarizing activity: evidence for a role in normal chick morphogenesis, J. Embryol. Exp. Morph., 50, 217-233.

Summerbell, D., 1981, Evidence for regulation of growth, size and pattern in the developing chick limb bud, J. Embryol. Exp. Morph., 65, 129-150.

Summerbell, D. and Wolpert, L., 1972, Cell density and cell division in the early morphogenesis of the chick wing, Nature New Biol., 239, 24-26.

Summerbell, D. and Lewis, J.H., 1975, Time, places and positional value in the chick limb bud, J. Embryol. Exp. Morph., 33, 621-643.

Summerbell, D. and Tickle, C., 1977, Pattern formation along the anterior-posterior axis of the chick limb bud, in: Vertebrate limb and somite morphogenesis, ed. by D.A. Ede, J.R. Hinchliffe and M. Balls, Cambridge Univ. Press, 41-53.

Summerbell, D., Lewis, J.H. and Wolpert, L., 1973, Positional information in chick limb morphogenesis, Nature, 244, 492-495.

Theiler, K., 1972, The House Mouse, Berlin-Heidelberg-New York, Springer Verlag.

Thorogood, P.V. and Hinchliffe, J.R., 1975, An analysis of the condensation process during chondrogenesis in the embryonic chick hind limb, J. Embryol. Exp. Morph., 33, 581-606.

Tickle, C., Albert, B., Wolpert, L. and Lee, J., 1982, Local application of retinoic acid to the limb bud mimics the action of the polarizing region, Nature, 296, 594.

Toner, P.G. and Carr, K.E., 1971, Cell structure, Edinburgh and London, 4-16.

Tomasek, J.T., Mazurkiewicz, J.E. and Newman, S.A., 1982, Nonuniform distribution of fibronectin during avian limb development, Devel. Biol., 90, 118-126.

Toole, B.P., 1973, Hyaluronate and hyaluronidase in morphogenesis and differentiation, Am. Zool., 13, 1061.

Trelstad, R.L., Hay, E.D. and Revel, J.P., 1967, Cell contact during early morphogenesis in the chick embryo, Devel. Biol., 16, 78-106.

Umansky, R., 1966, The effect of cell population density on the developmental fate of reaggregating mouse limb mesenchyme, Devel. Biol., 13, 31-56.

Weiss, L., 1966, The Cell, in: Histology, ed. by R.O. Greep, Mac Graw-Hill Book Co., 1-55.

Wolpert, L., 1969, Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation, J. Theoret. Biol., 25, 1-47.

Wolpert, L. and Hornbruch, A., 1981, Positional signalling along the anteroposterior axis of the chick wing. The effects of multiple polarizing region grafts, J. Embryol. Exp. Morph., 63, 145-159.

Yamada, K.M., Kennedy, D.W., Kimata, K. and Prait, R.M., 1980, Characterization of fibronectin interactions with glycosaminoglycans and identification of active proteolytic fragments, J. Biol. Chem., 255, 6055.

Zimmermann, B., 1982, Bildung und Bedeutung des Knorpelblastems während der Extremitätenentwicklung der Maus, Habilitationsschrift, FU Berlin.

Zimmermann, B., Scharlach, E. and Kaatz, R., 1982, Cell contact and surface coat alterations of limb-bud mesenchymal cells during differentiation, J. Embryol. Exp. Morph., 72, 1-18.

Zwilling, E., 1949, The role of epithelial components in the development of the wingless syndrome in chick embryos, J. Exp. Zool., 111, 175-188.

Zwilling, E., 1956a, Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo: I. Axis establishment, J. Exp. Zool., 132, 157-171.

Zwilling, E., 1956b, Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo: II. Experimental limb dublication, J. Exp. Zool., 132, 173-187.

Zwilling, E., 1956c, Reciprocal dependence of ectoderm and mesoderm during chick embryo limb development, Am. Nat., 90, 257-265.

Zwilling, E., 1961, Limb morphogenesis, Advanc. Morph., 1, 301-330.

Zwilling, E., 1964, Development of fragmented and of dissociated limb bud mesoderm, Devel. Biol., 9, 20-37.

Zwilling, E., 1972, Limb morphogenesis, Devel. Biol., 28, 12-17.

8. Abbildungen

Abb. 1: Obere Extremitätenknospe vom Mäuseembryo früher Tag 9, Somitenzahl 15-17.
Längsschnitt.
Die Extremitätenknospe ist als flache Vorwölbung zu erkennen (⟶).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 160.

Abb. 2: Extremitätenknospe am frühen Tag 9, Somitenzahl 15-17.
Längsschnitt.
Die Extremitätenknospe ist umgeben von 1-schichtigem Epithel (E). Sie ist gefüllt mit undifferenziertem lockeren Mesenchym (MES).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 400.

1

2

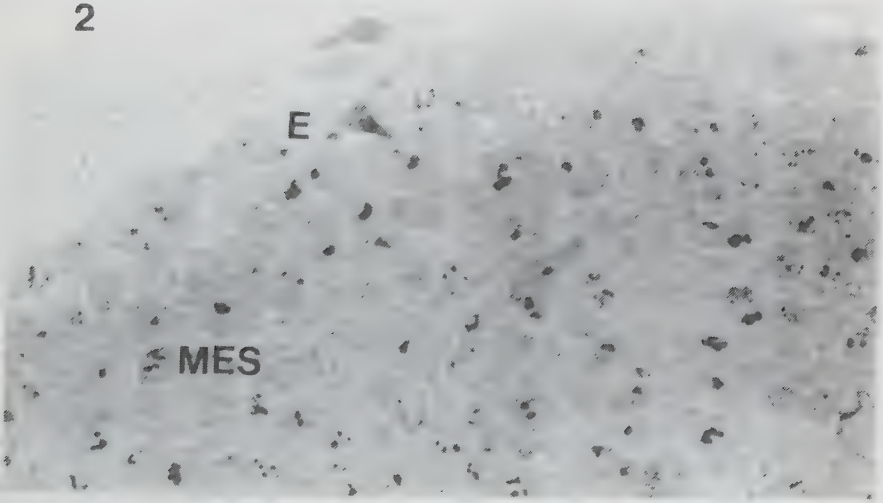


Abb. 3: Extremitätenknospe am Tag 9, Somitenzahl 18-20.
Längsschnitt.
Das Epithel zeigt Obergänge zu einem
2-schichtigen Aufbau (⟶).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 300.

Abb. 4: Extremitätenknospe am Tag 9 1/2,
Somitenzahl 21-23.
Längsschnitt.
Das Epithel (E) ist mehrschichtig, das
darunterliegende Mesenchym (MES) weiterhin
undifferenziert. Es finden sich im Epithel
und im Mesenchym viele Mitosen (⟶).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 400.

3

4

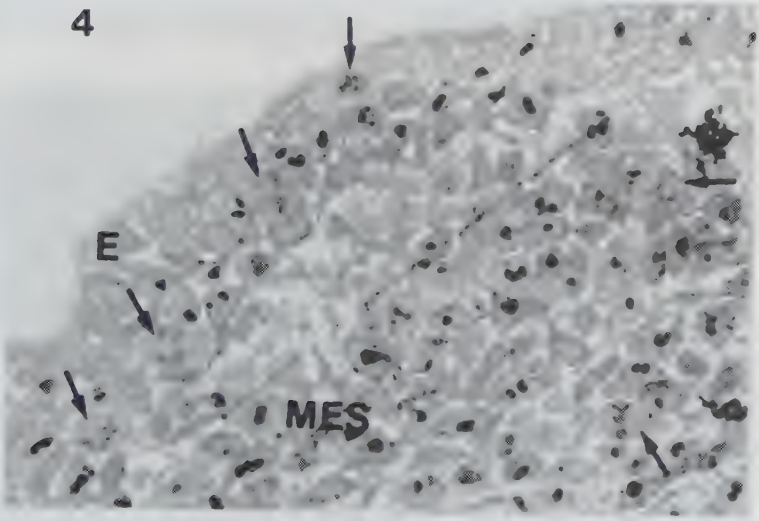


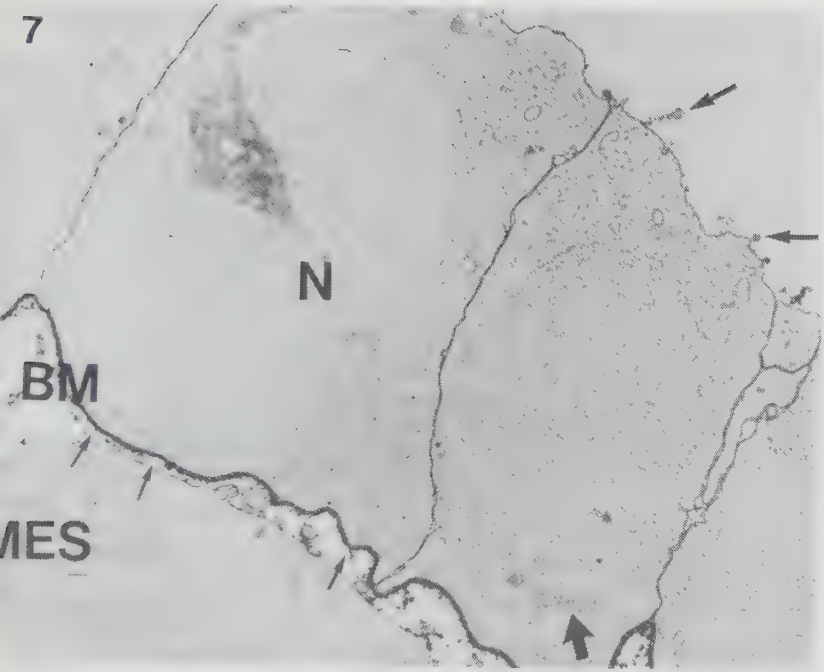
Abb. 5: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Mäuseembryos Tag 9, Somitenzahl 18-20. Die frühe obere Extremitätenanlage wird als diskrete Vorwölbung sichtbar (⟶). Gold-Palladium-Kontrastierung, X 50.

Abb. 6: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme am Tag 9, Somitenzahl 18-20. Die obere Extremitätenanlage stellt sich ventral der Somiten dar (⟶). Gold-Palladium-Kontrastierung, X 120.

5

Abb. 7: Elektronenmikroskopische Aufnahme des 1-schichtigen Epithels, das die frühe Extremitätenanlage umgibt.
Mäuseembryo früher Tag 9, Somitenzahl 15-17.
Die Zellen besitzen einen rundovalen Zellkern (N) und wenige Mitochondrien (➡). An der Zelloberfläche sind vereinzelt Microvilli zu erkennen (⟶). Die Basalmembran (BM) ist kontinuierlich, darunter schließen sich Mesenchymzellen an (MES).
Tannin, X 12.000.

Abb. 8: Obere Extremitätenanlage vom Mäuseembryo Tag 10, Somitenzahl 26-28.
Längsschnitt.
Am distalen Rand der Extremitätenanlage ist die ektodermale Randleiste ("apical ectodermal ridge", AER) in ihrem frühen Stadium zu erkennen (⟶).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 160.


7
N
BM
MES

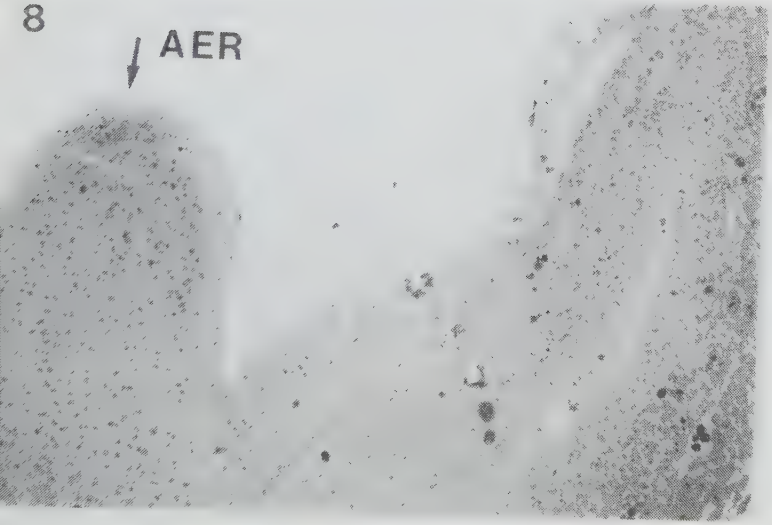
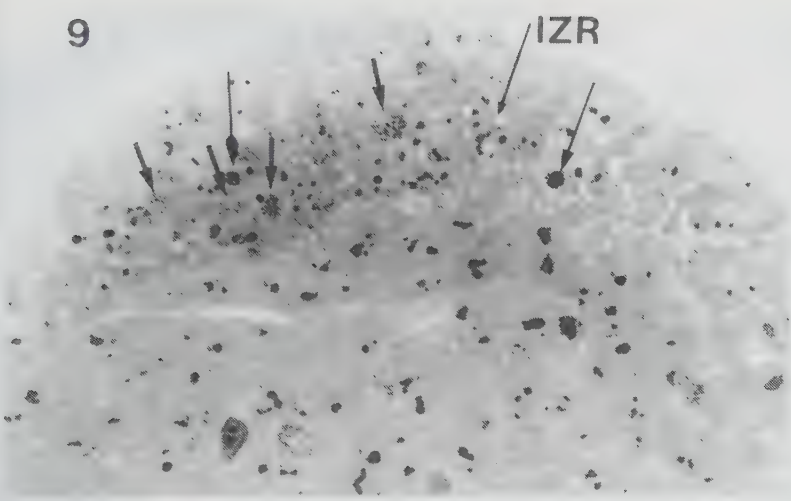

8
AER

Abb. 9: Distaler Bereich der Extremitätenanlage am Tag 10, Somitenzahl 26-28.
Längsschnitt.
Die AER ist aufgebaut aus 6- bis 7-schichtigem Epithel. Die AER-Zellen enthalten gehäuft Mitosen (→) und vereinzelt phagocytiertes Material (→). Im Bereich der AER sind die Interzellularräume (IZR) deutlich schmaler als im sich anschließenden Epithel.
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 400.

Abb. 10: Distaler Bereich der Extremitätenanlage am Tag 10 1/2, Somitenzahl 32-33.
Querschnitt.
Die AER zeigt andeutungsweise die "nipple-shaped" Konfiguration (→).
Semidünnschnitt, Giemsa-Färbung, X 640.

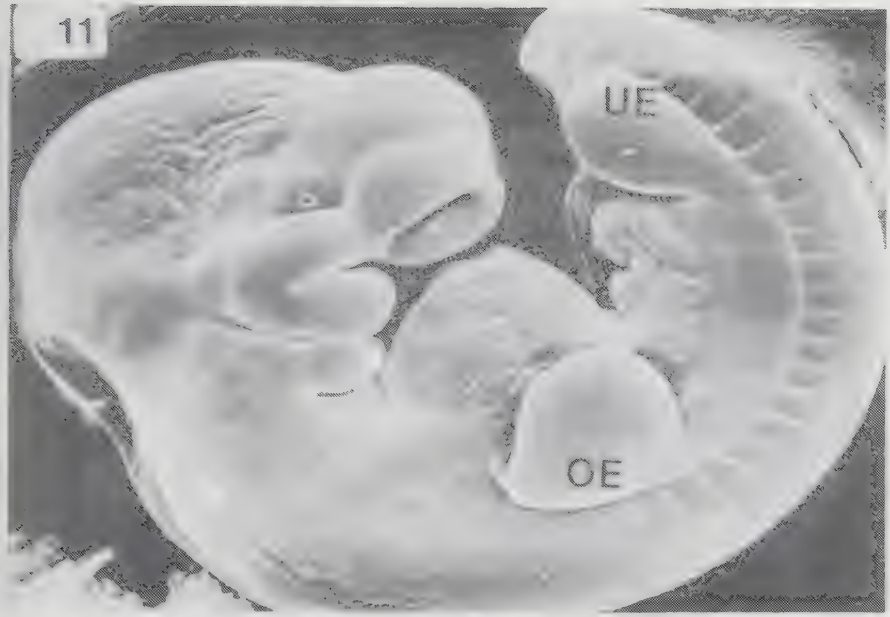
9



10

Abb. 11: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Mäuseembryos Tag 10, Somitenzahl 26-30.
Die obere Extremitätenanlage (OE) hat die Paddelform ausgebildet. Die untere Anlage (UE) ist auch schon ausgebildet, doch vergleichsweise kleiner als die obere.
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 55.

Abb. 12: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der oberen Extremitätenanlage am Tag 10, Somitenzahl 26-30.
Die obere Extremitätenanlage (OE) zeigt am distalen Rand die ektodermale Randleiste (★).
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 200.


11
UE
OE

12
OE

Abb. 13: Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahme der oberen Extremitätenanlage am Tag 10, Somitenzahl 26-30.
Die AER ist deutlich als epitheliale Verdickung zu erkennen (⟶).
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 600.

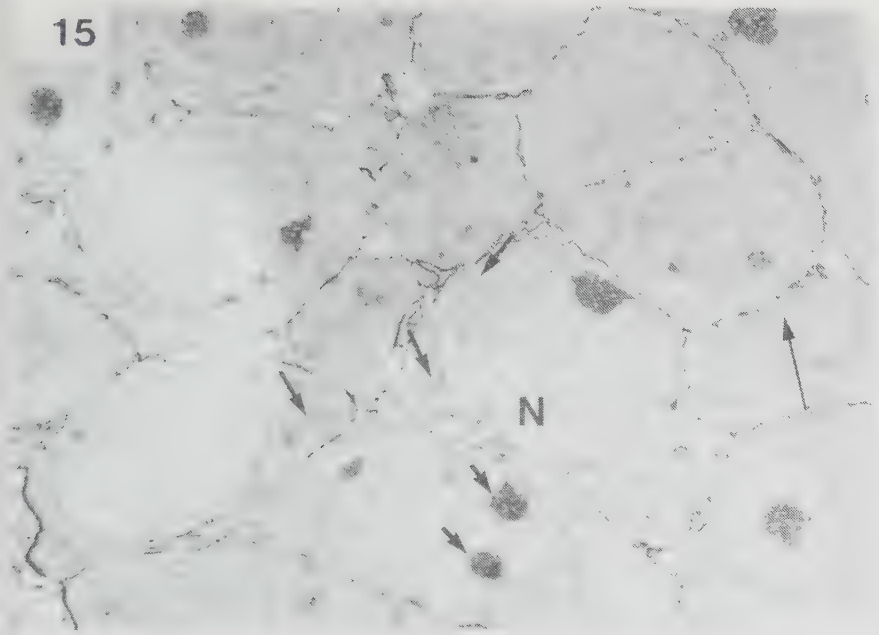
Abb. 14: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der unteren Extremitätenanlage am Tag 10, Somitenzahl 26-30.
Die untere Extremitätenanlage (UE) besitzt noch keine AER.
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 200.

13
OE

14.
UE

Abb. 15: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Epithels im Bereich der AER.
Mäuseembryo Tag 10 1/2, Somitenzahl 32-33.
Die Zellen enthalten einen rundovalen Zellkern (N) mit z.T. 1 bis 2 Nukleoli (➔), viele Mitochondrien (⟶) und vereinzelt Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums (⟶). Die Interzellularräume (IZR) sind eng.
Tannin, X 6.000.

Abb. 16: Elektronenmikroskopische Aufnahme des AER-Epithels am Tag 10, Somitenzahl 26-28.
Das Epithel (E) ist vom Mesenchym (MES) durch eine kontinuierliche Basalmembran getrennt (⟶).
Tannin, X 6.000.


15
N

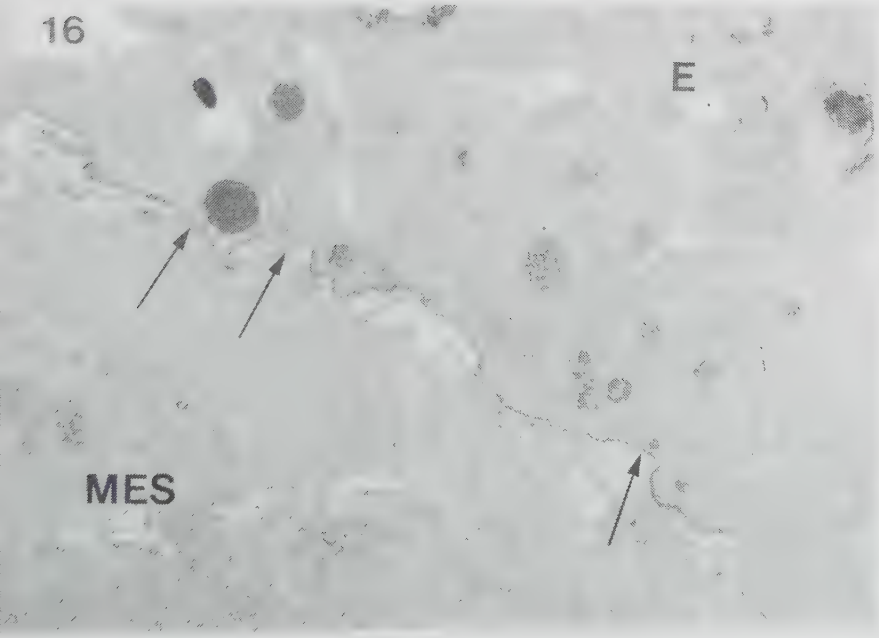

16
E
MES

Abb. 17: Elektronenmikroskopische Detailaufnahme aus dem basalen Bereich der AER am Tag 10, Somitenzahl 26-28.
Die Basalmembran (BM) ist durch die Fixierung mit Tannin sehr gut zu erkennen.
Basale Epithelzellen (E), umgeben mit der Basalmembran, ragen z.T. zahnartig in das Mesenchym (MES) hinein.
Tannin, X 18.000.

Abb. 18: Elektronenmikroskopische Detailaufnahme aus dem apikalen Bereich der AER am Tag 10, Somitenzahl 26-28.
Die Zellen zeigen viele Microvilli (MV) und endocytotische oder exocytotische Einschnürungen (⟶) und Vesikel (V). Zahlreiche Microtubuli (⟶) werden hier sichtbar.
Tannin, X 18.000.

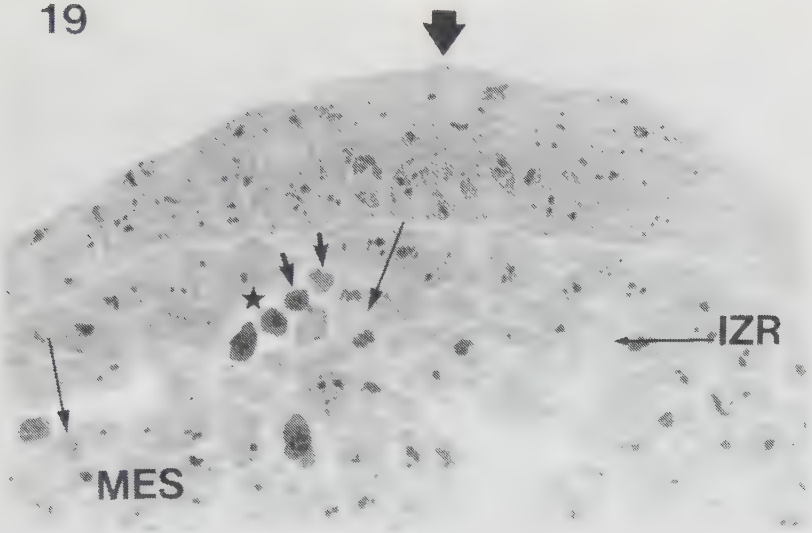
17
MES
BM
E

18
MV
V

Abb. 19: Distaler Bereich der oberen Extremitätenanlage mit AER vom Mäuseembryo Tag 11, Somitenzahl 36-40.
Längsschnitt.
Die oberen Epithelzellen der AER sind im Gegensatz zu den darunterliegenden abgeflacht (➡). Das subapikale Mesenchym (MES) zeigt im Vergleich zur AER weite Interzellularräume (IZR). Es werden Mitosen (⟶) und der venöse Randsinus (★) mit kernhaltigen Erythrocyten (➔) sichtbar.
Semidünnschnitt, Giemsa-Färbung, X 400.

Abb. 20: Distaler Bereich der Extremitätenanlage am Tag 11, Somitenzahl 36-40.
Querschnitt.
Die AER hat ihre typische "nipple-shaped" Konfiguration ausgebildet (⟶).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 400.

19

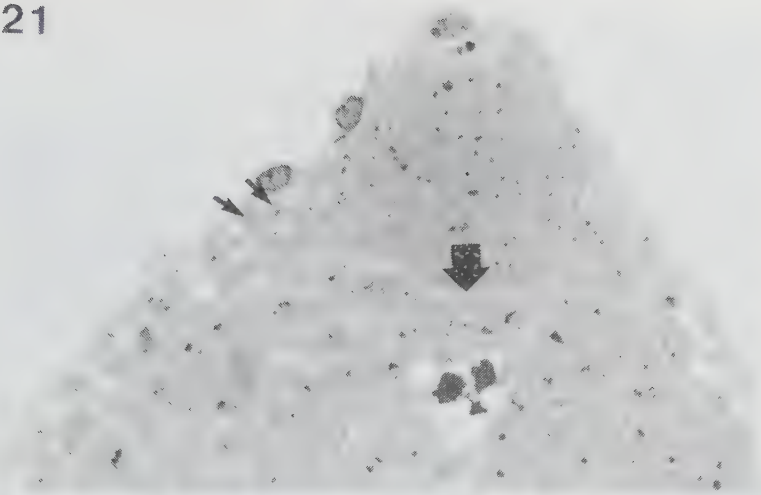


20

Abb. 21: Distaler Bereich der Extremitätenanlage am Tag 11 1/2.
Querschnitt.
Die AER ist maximal aufgebaut. Mitosen (→) sind gegenüber dem Tag 10 seltener zu sehen. Basal senkt sich die AER in das Mesenchym ein (→).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 400.

Abb. 22: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Mäuseembryos Tag 11.
Die obere (OE) und die untere (UE) Extremitätenanlage zeigt die Paddelform. Wieder ist der Wachstumsvorsprung der oberen Anlage zu erkennen.
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 40.

21



22

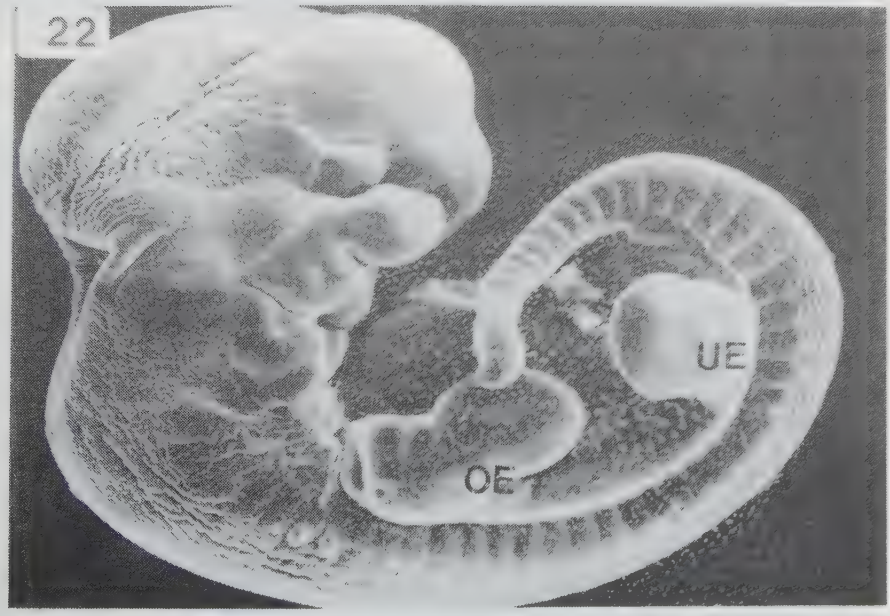
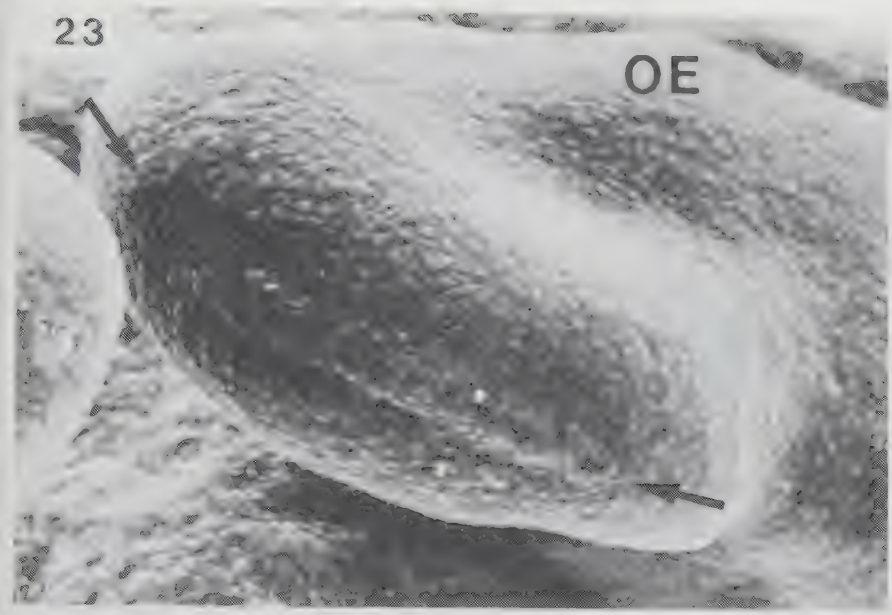


Abb. 23: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der oberen Extremitätenanlage am Tag 11. Am distalen Rand der oberen Anlage (OE) wird die ektodermale Randleiste (★) eindrucksvoll sichtbar. Sie ist nach präaxial verschoben lokalisiert (⟶). Gold-Palladium-Kontrastierung, X 180.

Abb. 24: Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahme der oberen Extremitätenanlage am Tag 11. Wie am Tag 10 wird die AER als prominente Epithelleiste sichtbar (⟶). Gold-Palladium-Kontrastierung, X 600.


23
OE

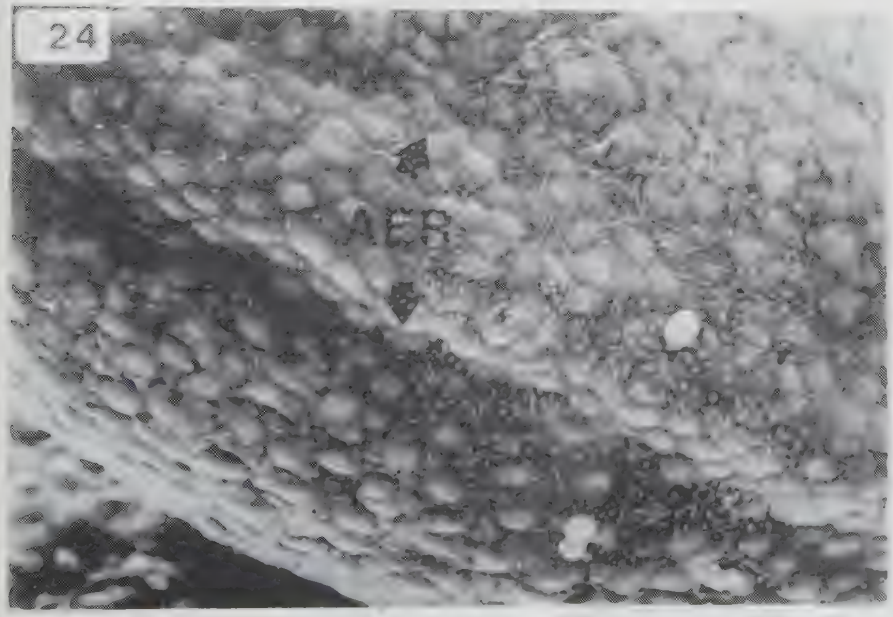
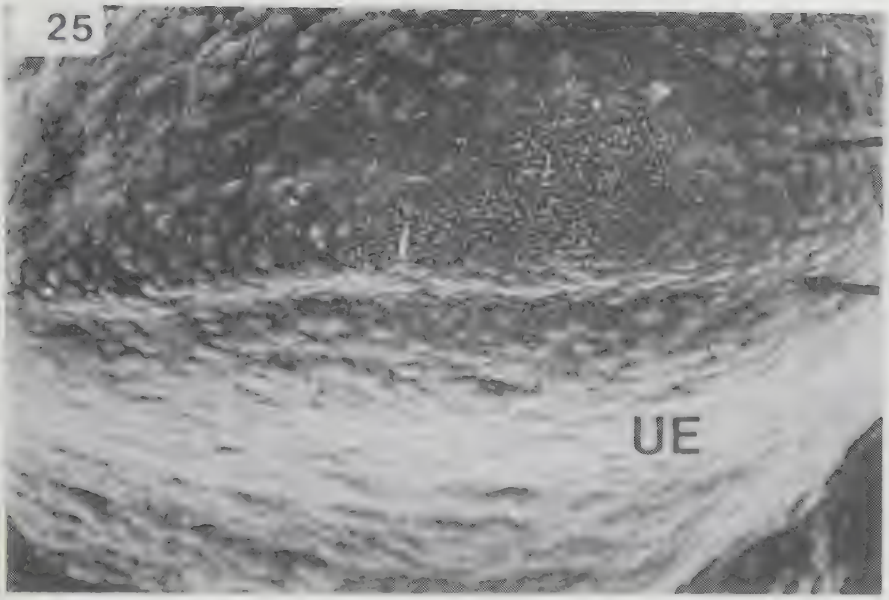

24
AER

Abb. 25: Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahme der unteren Extremitätenanlage am Tag 11. Auch die untere Anlage (UE) weist jetzt eine AER auf (⟶).
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 370.

Abb. 26: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Mäuseembryos Tag 11 1/2.
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 30.


25
UE

26

Abb. 27: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme am Tag 11 1/2.
Obere Extremitätenanlage (OE) mit der AER (⟶).
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 130.

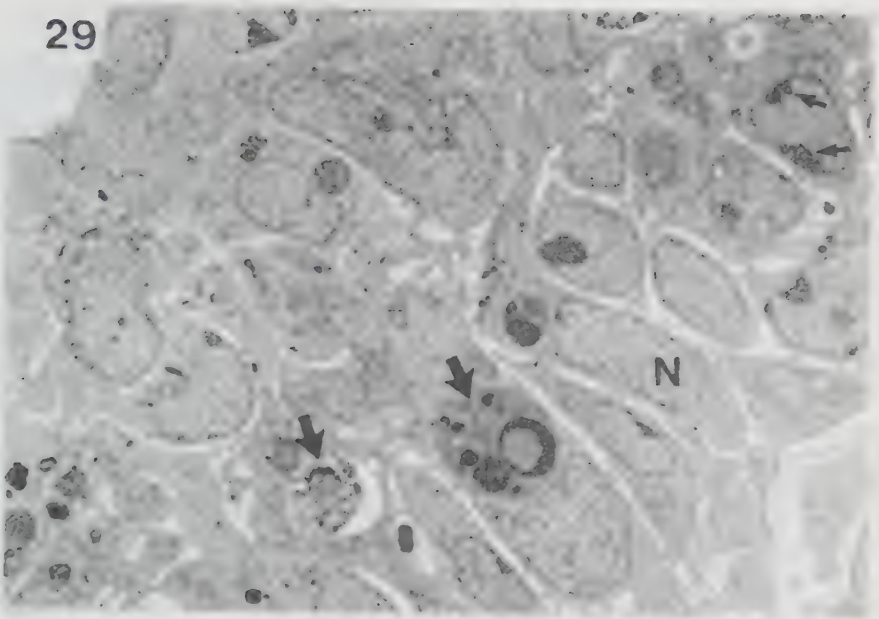
Abb. 28: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der unteren Extremitätenanlage am Tag 11 1/2.
Untere Extremitätenanlage (UE) mit der AER (⟶).
Gold-Palladium-Kontrastierung, X 110.

27
OE

28
UE

Abb. 29: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Epithels im Bereich der AER vom Mäuseembryo Tag 10. Die AER-Zellen zeigen neben rundovalen Zellkernen (N) mit 1 oder mehreren Nukleoli (➔) auch Phagolysosomen (➔). Karnovsky, X 6.000.

Abb. 30: Elektronenmikroskopische Detailaufnahme einer organellarmen Epithelzelle im Bereich der AER am Tag 10. Es sind nur vereinzelte Mitochondrien (M) und Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums (ER) zu finden. Karnovsky, X 40.000.


29
N

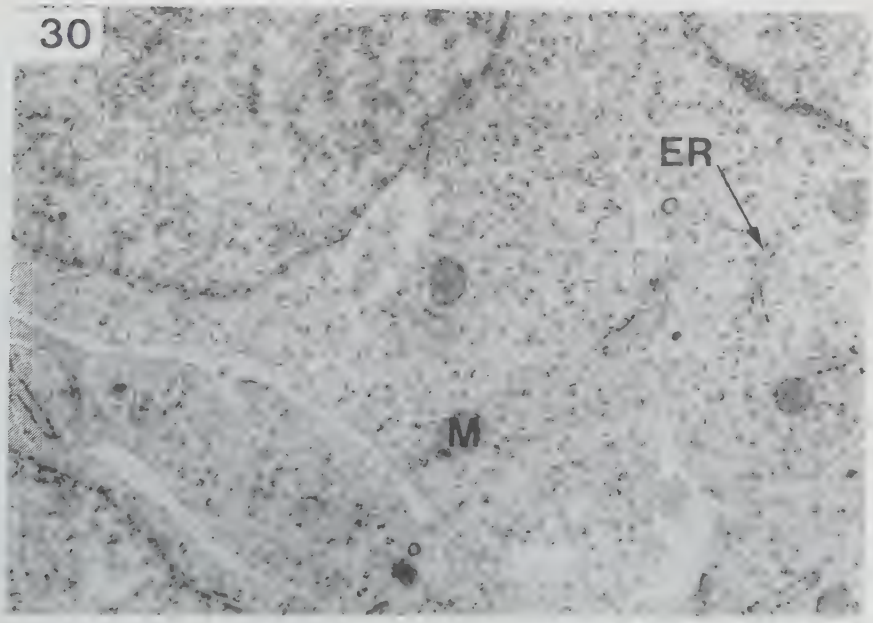
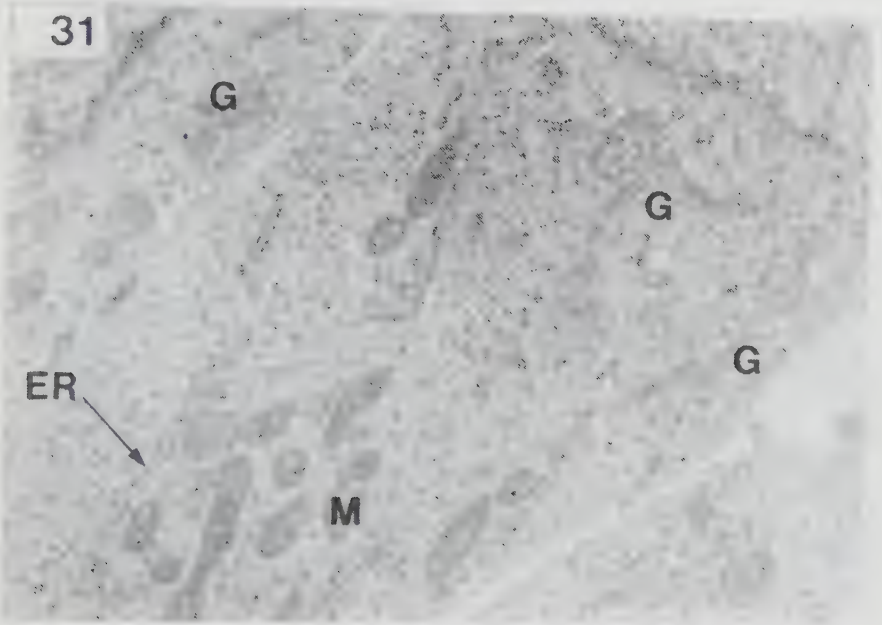

30
ER
M

Abb. 31: Elektronenmikroskopische Detailaufnahme einer morphologisch entwickelten AER-Zelle am Tag 10.
Es sind viele Mitochondrien (M) zu erkennen, Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums (ER) und gut ausgebildete Golgi-Apparate (G).
Karnovsky, X 40.000.

Abb. 32: Detailaufnahme einer AER-Zelle am Tag 10.
Die Zellen zeigen untereinander Zellkontakte in Form von Desmosomen (⟶).
Karnovsky, X 18.000.


31
G
G
G
ER
M

32

Abb. 33: Detailaufnahme einer AER-Zelle am Tag 10.
Ausgedehnte Zellkontakte vom Typ der
"gap junctions" sind zu erkennen (⟶).
Karnovsky, X 60.000.

Abb. 34: Elektronenmikroskopische Aufnahme des sich
an die AER anschließenden Extremitätenknospen-
epithels am Tag 10.
Es zeigt einen 2-schichtigen Aufbau und weite
Interzellularräume (IZR).
Karnovsky, X 8.000.

33

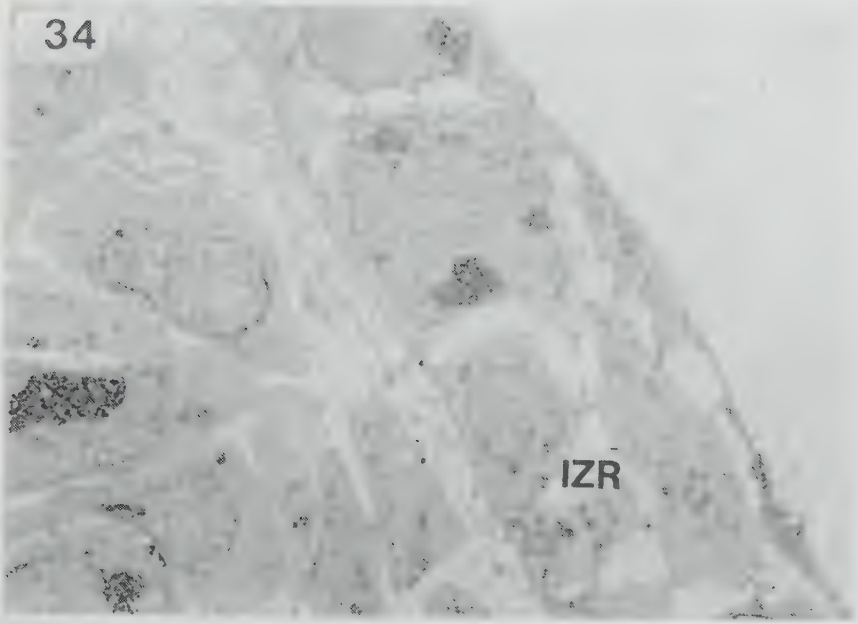
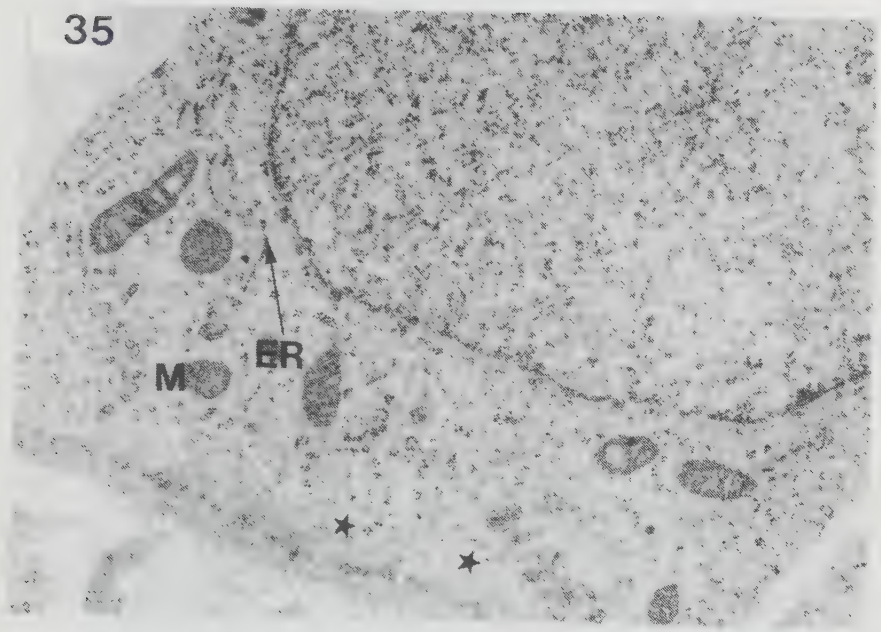

34
IZR

Abb. 35: Elektronenmikroskopische Detailaufnahme aus dem sich an die AER anschließenden Extremitätenknospenepithel am Tag 10. Es sind hier gegenüber der AER Mitochondrien (M), Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums (ER) und Microtubuli ( ) weniger zahlreich zu erkennen. Karnovsky, X 40.000.

Abb. 36: Detailaufnahme aus dem sich an die AER anschließenden Extremitätenknospenepithel am Tag 10.
Auch Golgi-Apparate (G), "coated vesicles" (➔) und Zellkontakte (⟶) stellen sich im Vergleich zu den AER-Zellen seltener dar.
Karnovsky, X 40.000.


35
M
ER

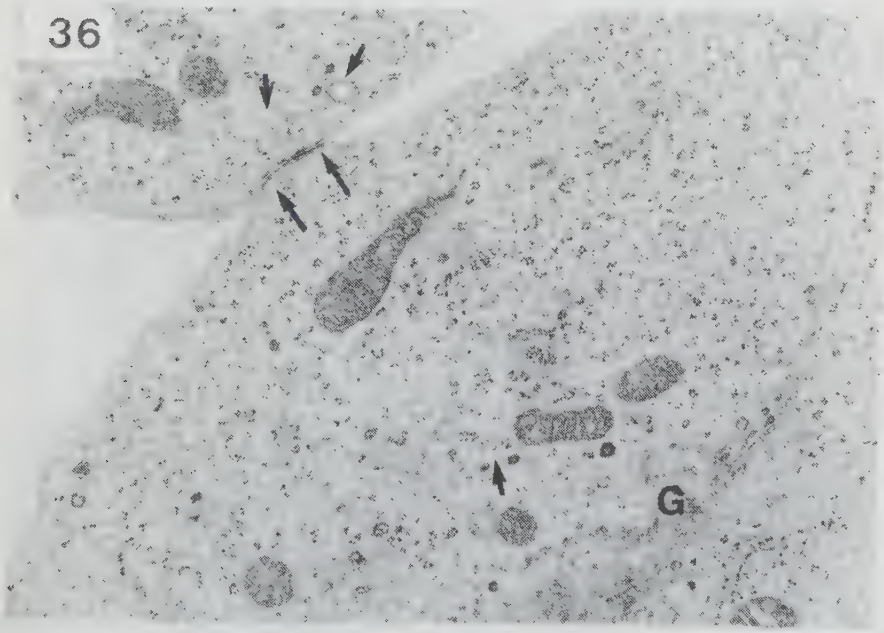
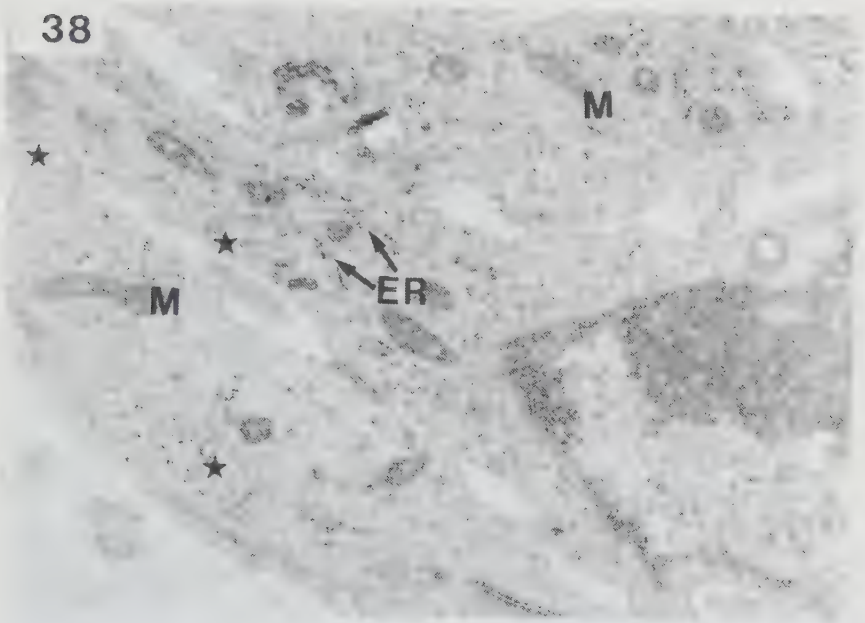

36
G

Abb. 37: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Epithels im Bereich der AER am Tag 11. Der interzelluläre Raum (⟶) zwischen den AER-Zellen ist gegenüber dem Tag 10 noch enger. Wieder ist intrazelluläres phagocytiertes Material zu erkennen (⟶). Karnovsky, X 6.000.

37
IZR

Abb. 38: Elektronenmikroskopische Detailaufnahme einer AER-Zelle am Tag 11. Mitochondrien (M), Profile des rauhen endoplasmatischen Retikulums (ER) und Vesikel (★) sind gehäuft zu finden. Karnovsky, X 40.000.

Abb. 39: Detailaufnahme einer AER-Zelle am Tag 11. Die Zellen enthalten zahlreiche Golgi-Apparate (G). Untereinander zeigen sie auch hier Zellkontakte vom Typ der "gap junctions" (⟶). Karnovsky, X 40.000.


38
M
M
ER

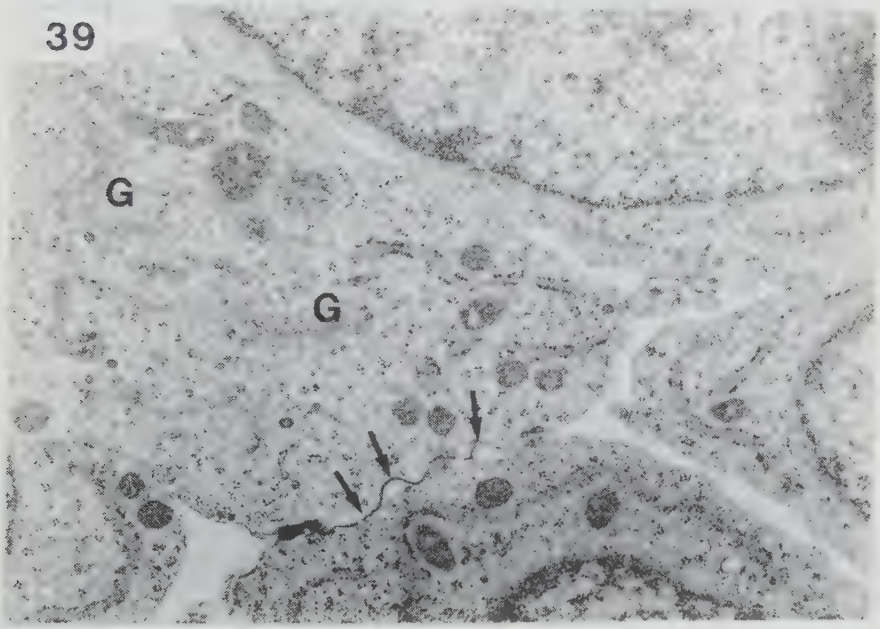
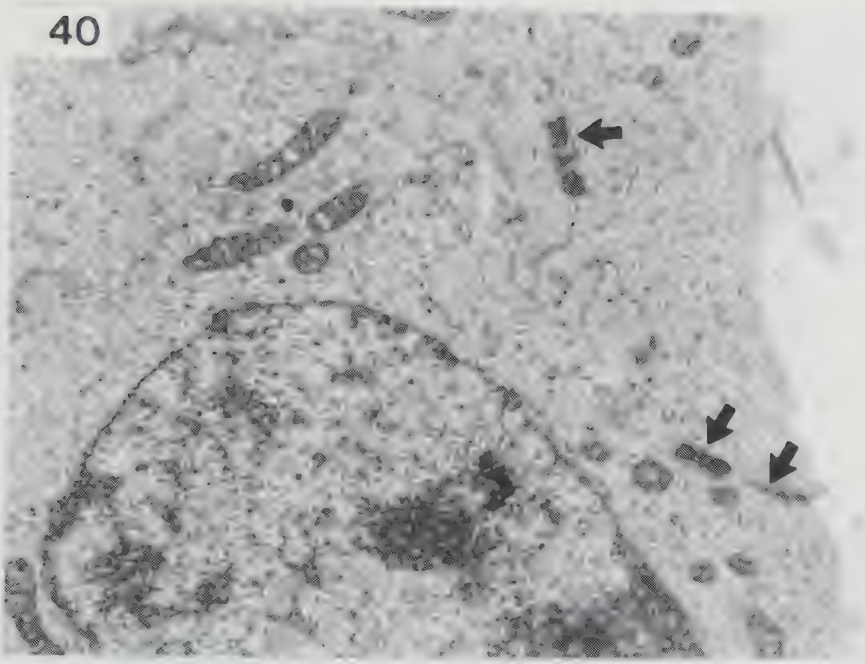

39
G
G

Abb. 40: Detailaufnahme einer AER-Zelle am Tag 11.
Zahlreiche Desmosomen sind zu erkennen (⟶).
Karnovsky, X 40.000.

Abb. 41 Distaler Bereich der oberen Extremitätenanlage vom Mäuseembryo Tag 12.
Längsschnitt.
Die AER ist aufgebaut wie am Tag 10 und 11 aus mehrschichtigem Epithel mit schmalen interzellulären Zwischenräumen (⟶).
Mitosen (⟶) sind kaum mehr zu finden.
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 300.

40



41

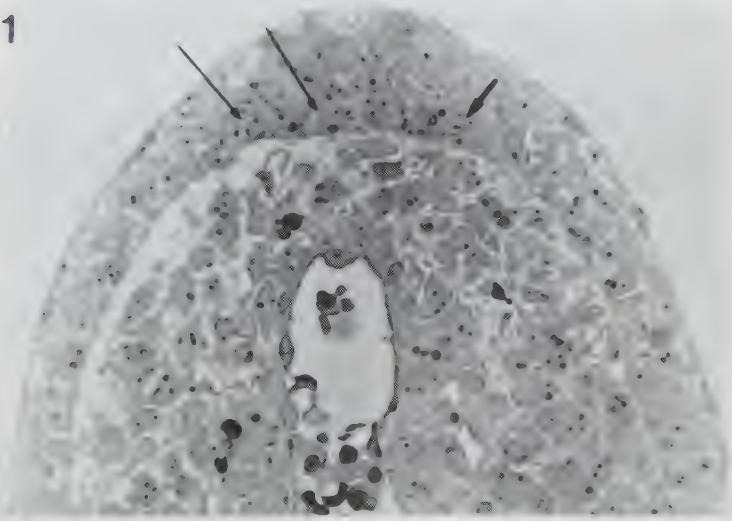
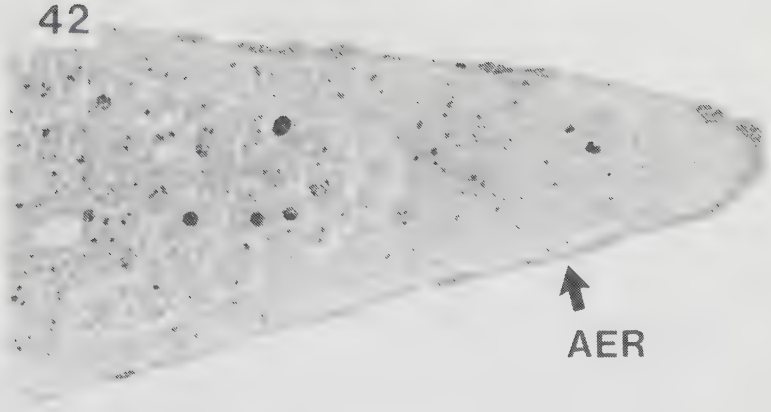
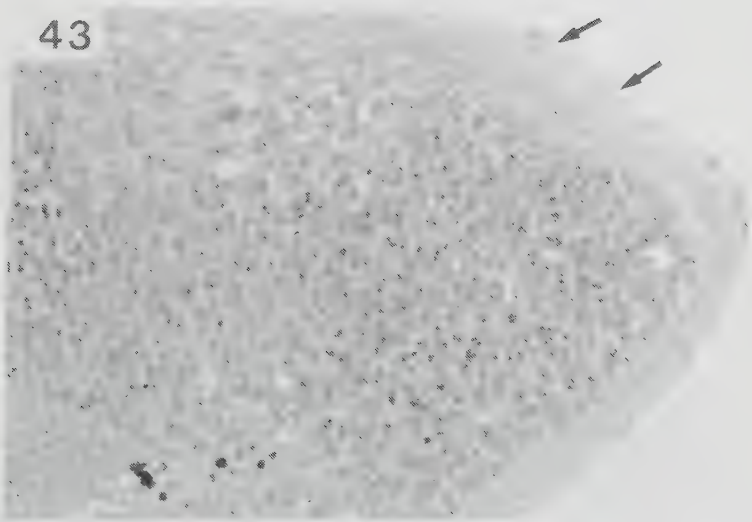


Abb. 42: Distaler Bereich der Extremitätenanlage am Tag 13.
Querschnitt.
Die AER ist noch deutlich am distalen Rand der Anlage zu erkennen (⟶).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 300.

Abb. 43: Distaler Bereich der Extremitätenanlage am Tag 14.
Längsschnitt.
Die AER ist nicht mehr zu finden. Am ventralen Rand der Anlage ist hier noch 3- bis 4-schichtiges Epithel zu erkennen (⟶).
Semidünnschnitt, Azan-Färbung, X 160.


42
AER


43

Danksagung

Herrn Professor Merker danke ich für seine vielfältige und großzügige Unterstützung und für die zu jeder Zeit sehr freundliche Begegnung während der Durchführung dieser Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Instituts für Anatomie und des Instituts für Toxikologie und Embryonalpharmakologie, besonders Frau Stürje, Frau Krüger, Frau Wolff, Frau Steiner, Herrn Stenzel und Herrn Priv. Doz. Dr. Zimmermann; alle haben mir über die praktische Hilfe hinaus Aufgeschlossenheit und Freundlichkeit entgegengebracht.

Lebenslauf

1951	1. Juli, geboren in Berlin
1957 - 1963	Besuch der Grundschule
1963 - 1970	Besuch des Gymnasiums, Goethe-Schule in Berlin
1970	Januar, Abitur
1970 - 1976	zunächst Studium des Faches Biologie, dann des Faches Germanistik an der Freien Universität Berlin
1976 - 1982	Medizinstudium an der Freien Universität Berlin
1982	November, Approbation
1983	Februar, Beginn der Dissertation